

**Contribution à l'Étude
de la Tuberculose expérimentale
chez le lapin
(Étude des vaccins huileux)**

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie
de Montpellier

le 23 Juin 1943

par

ELISE AUTHIER

Ancien Interne des Hôpitaux de Montpellier en Pharmacie

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION : PHARMACIE)

JURY : { MM. HOLLANDE prof. *Président*.
JUILLET, prof.
GIROUX, Maître de Conférences } *Assesseurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(PIERRE ROUGE)

1943

**Contribution à l'étude
de la Tuberculose expérimentale
chez le lapin**

(ÉTUDE DES VACCINS HUILEUX)

**Contribution à l'Étude
de la Tuberculose expérimentale
chez le lapin
(Étude des vaccins huileux)**

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie
de Montpellier

le **Juin 1943**

par

ELISE AUTHIER

Ancien Interne des Hôpitaux de Montpellier en Pharmacie

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION : PHARMACIE)

JURY : { MM. HOLLANDE prof. *Président.*
JUILLET, prof.
GIROUX, Maître de Conférences } *Assesseurs*

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA CHARITÉ
(PIERRE ROUGE)

1943

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☞)	<i>Doyen.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞) ☛.C.✙.	
G. O. ✙)	<i>Assesseur.</i>
TOURRETTE (I. P. ☞).....	<i>Secrétaire.</i>

PROFESSEURS

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☞)	<i>Pharm. galénique et industrielle.</i>
C. HOLLANDE (I. P. ☞)	<i>Zoologie et microbiologie.</i>
A. JUILLET (I. P. ☞)	<i>Botanique et matière médicale.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞, ☛, C. ✙,	
G. O. ✙)	<i>Pharmacie chimique.</i>
E. CANALS (I. P. ☞)	<i>Physique.</i>
P. JAULMES (A. ☞)	<i>Analyse et Toxicologie.</i>
R. DOLIQUE (A. ☞)	<i>Chimie minérale.</i>
R. GRANGER, chargé du cours.....	<i>Chimie biologique</i>

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☞, ☛)

PROFESSEURS HONORAIRES

MM.

F. JADIN (O. ✱, I. P. ☞), Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.
M. MOUSSERON, (A. ☞) professeur à la Faculté des Sciences.

MAITRE DE CONFÉRENCES

M. J. GIROUX..... *Pharmacodynamie.*

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.

A. JUILLET (I. P. ☞)	<i>Botanique.</i>
A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☞, ☛, C. ✙,	
G. O. ✙)	<i>Fonctions en chimie organique.</i>
E. CANALS (I. P. ☞)	<i>Hydrologie.</i>
P. JAULMES (A. ☞)	<i>Toxicologie.</i>
R. DOLIQUE (A. ☞)	<i>Chimie organique.</i>
J. GIROUX	<i>Zoologie.</i>
J. SUSPLUGAS	<i>Cryptogamie.</i>
L. ASTRUC	<i>Législation pharmaceutique.</i>

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.

L. FARRÉ (I. P. ☞)	<i>Chimie et Pharmacie.</i>
SUSPLUGAS	<i>Histoire naturelle.</i>
CASTEL	<i>Chimie.</i>

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui sont présentées.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR HOLLANDE

Professeur de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Montpellier

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JUILLET

Professeur de Botanique
à la Faculté de Pharmacie de Montpellier

A MONSIEUR GIROUX

Maître de Conférences
à la Faculté de Pharmacie de Montpellier

AVANT-PROPOS

Parvenue à la dernière étape de notre vie universitaire et sur le point de quitter de façon définitive la Faculté, nous sommes heureuse d'exprimer toute notre reconnaissance à ceux qui, de diverses manières, nous ont soutenue et guidée au cours de ces années d'étude.

C'est à notre Maître, Monsieur le Professeur HOLLANDE, à ses conseils éclairés, à sa bonté compréhensive, que nous devons d'avoir pu mener à bien le travail que nous avons l'honneur de présenter aujourd'hui.

Malgré notre arrivée tardive dans son laboratoire, il a bien voulu nous confier une part des travaux effectués sous sa direction, et nous a largement accordé le secours de ses encouragements et de son expérience ; qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

Nos vifs remerciements vont aussi à Monsieur le Professeur JUILLET, dont l'enseignement nous apporta une aide précieuse au cours de nos recherches, et qui sut, dès nos premières années à la Faculté, nous inculquer le goût du travail minutieux et précis du laboratoire.

Nous sommes profondément reconnaissante à Monsieur GIROUX d'avoir bien voulu accepter d'être un de nos juges.

Que Madame HOLLANDE veuille bien trouver ici l'expression de nos sentiments respectueux et reconnaissants pour l'accueil bienveillant que nous avons trouvé auprès d'elle.

Toute notre gratitude va à Monsieur BESSIÈRE, qui a patiemment guidé nos premiers essais et nous a par la suite constamment prodigué son aide et ses conseils.

Nous ne saurions oublier Mlle BORIFAX, notre aînée au laboratoire, à laquelle nous devons notre initiation.

Nous adressons un hommage reconnaissant à tous nos Maîtres de la Faculté de Pharmacie, qui nous ont dispensé leur enseignement.

Nous prions Monsieur IRISSOU, Pharmacien en chef des Hôpitaux, de vouloir bien accepter nos remerciements pour la bonté qu'il nous a constamment témoignée au cours de notre vie d'interne.

Enfin, nos pensées affectueuses vont à nos camarades de l'Internat, à tous les nôtres qui ont tant fait pour nous.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION	15
Historique	17
Généralités	27
Plan du travail	27

CHAPITRE PREMIER

Méthodes et techniques	31
I. — Techniques de préparation des vaccins et extraits microbiens.....	31
A) Techniques générales	31
1) Souches microbiennes utilisées	31
2) Emulsion	32
3) Numération	33
4) Filtration	34
B) Techniques particulières	34
1) Vaccin huileux complet	34
2) Vaccin huileux acétonique	35
3) Vaccin acétone aqueux	35
4) Extrait acétonique	36
5) Antigène méthylique dilué	36
6) Extrait trichloracétique	36
II. — Administration de ces produits	37
1) Injections sous-cutanées	37
2) Injections intraveineuses	37
3) Injections intradermiques	37

III. — Techniques et méthodes utilisées pour suivre la réaction des animaux traités	38
1) Pesées	38
2) Séro-agglutination	38
3) Formules leucocytaires	41
4) Autopsie	43

CHAPITRE II

Essais de vaccination du lapin par extraits huileux de B.K. ...	45
---	----

PREMIÈRE PARTIE

Traitement par le filtrat huileux complet	46
Première série : <i>Essais de vaccination préventive</i>	47
I. — Observations relatives aux animaux traités	48
A) Lapins témoins	48
Lapin T	49
Lapin T ₁	49
Lapin T ₂	50
Lapin T ₃	51
B) Lapins traités	52
1) Essai de vaccination par voie intraveineuse	53
Lapin I	54
Lapin I ₁	56
2) Essai de vaccination par voie sous-cutanée ...	57
Lapin I ₂	58
Lapin H	59
Conclusions	61
II. — Résultats sérologiques	63
A) Lapins témoins	64
Lapin T	64
Lapin T ₁	64
Lapin T ₂	64
Lapin T ₃	64
B) Lapins traités	65
1) Essai de vaccination par voie intraveineuse ...	65
Lapin I	65
Lapin I ₁	65

— II —

2) Essai de vaccination par voie sous-cutanée ..	66
Lapin I ₂	66
Lapin H	66
III. — Réactions allergiques	68
Lapin T ₁	68
Lapin I	69
IV. — Étude des formules leucocytaires	70
A) Lapins témoins	70
Lapin T	70
Lapin T ₁	70
B) Lapins traités	71
Lapin I	71
Lapin I ₁	71
Lapin I ₂	71
Lapin H	71
Deuxième série : <i>Essai de traitement curatif</i>	73
I. — Observations relatives aux animaux traités	74
1) Traitement par voie intraveineuse	74
Lapin C	74
Lapin V	76
2) Traitement par voie sous-cutanée	76
Lapin C ₁	76
Lapin C ₂	77
Conclusions	77
II. — Résultats sérologiques	79
Recherche des agglutinines	79
1) Vaccination par voie intraveineuse	79
Lapin C	79
Lapin V	79
2) Vaccination par voie sous-cutanée	80
Lapin C ₁	80
Lapin C ₂	80
III. — Études des formules leucocytaires	81
Lapin C	81
Lapin V	81
Lapin C ₁	84
Lapin C ₂	81

DEUXIÈME PARTIE

Traitement par le filtrat huileux acétonique	83
I. — Observations relatives au lapin traité : E	83
II. — Résultats sérologiques	85
Recherche des agglutinines	85
III. — Formules leucocytaires	86

CHAPITRE III

Essais sur le lapin, de traitements par des bacilles dégraissés et par divers extraits bacillaires lipidiques, en milieu aqueux ..	89
Vaccin acétone aqueux. Antigène méthylique dilué	89

PREMIÈRE PARTIE

Traitements. Résultats des pesées et autopsies	91
A) <i>Lapins traités par le vaccin acétone aqueux</i>	91
1) Traitement progressif	92
a) Lapin X (Traitement à l'extrait trichloracétique)	93
Lapin X ₂	94
b) Lapin H ₁	95
Lapin H ₂	95
c) Lapin Y	96
2) Traitement intensif	97
Lapin I	97
Lapin II (Traitement à l'extrait acétonique)	98
Conclusions	99
B) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué</i>	101
1) Traitement progressif	101
Lapin Z ₁	101
Lapin Z ₂	102
2) Traitement intensif	102
Lapin Y ₂	102
C) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué et le vaccin acétone aqueux</i>	104
Lapin C ₁	104
Lapin Z	106
Lapin Y ₁	107
Conclusions	109

DEUXIÈME PARTIE

Résultats sérologiques	111
A) <i>Lapins traités par le vaccin acétone aqueux</i>	111
1) Traitement progressif	111
a) Lapin X (Traitement par l'extrait trichloracétique)	111
Lapin X ₂	112
b) Lapins H ₁ - H ₂	113
c) Lapin Y	113
2) Traitement intensif	113
Lapin I	114
Lapin II (Traitement par l'extrait acétonique) ..	114
Conclusions	115
B) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué</i>	117
1) Traitement progressif	117
Lapin Z ₁	117
2) Traitement intensif	118
Lapin Y ₂	118
Conclusions	118
C) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué et le vaccin acétone aqueux</i>	119
Lapin C ₁	119
Lapin Z	120
Lapin Y ₁	120
Conclusions	121

TROISIÈME PARTIE

Étude des formules leucocytaires	123
A) <i>Lapins traités par le vaccin acétone aqueux</i>	123
1) Traitement progressif	123
Lapin X (Traité par l'extrait trichloracétique)	123
Lapins H ₁ - H ₂	123
2) Traitement intensif	124
Lapin I	124
Lapin II (Traité par l'extrait acétonique)	124

B) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué</i>	124
Lapin Z ₃	124
C) <i>Lapins traités par l'antigène méthylique dilué et le vaccin</i> <i>acétone aqueux</i>	124
Lapin Cr	124
Lapin Z	124
Lapin Y ₁	124
Conclusions	125

APPENDICE

Remarques au sujet de quelques réactions sérologiques	133
Conclusions générales	139
Bibliographie	147

INTRODUCTION

Ce n'est pas sans une certaine appréhension que nous avons envisagé d'entreprendre le travail que nous présentons aujourd'hui. Il se rattache en effet à un problème dont l'ampleur, et l'écrasante diversité nous ont paru totalement disproportionnées avec nos modestes possibilités, aussi croyons-nous bon de situer avant tout notre travail et de préciser dans quel esprit nous l'avons abordé.

Nous l'avons entrepris cependant, guidée par la main sûre de Monsieur le Professeur HOLLANDE, dont les conseils nous ont conduite pas à pas dans une tâche délicate et dont les encouragements nous ont été d'un précieux secours dans les difficultés que devait parfois nous apporter la manipulation d'un matériel aussi instable qu'est l'animal d'expérience. Notre étude s'intègre dans la série des travaux déjà effectués au Laboratoire de Monsieur le Professeur HOLLANDE, dans le cadre qu'il a fixé ; nous avons puisé le plus souvent dans les sujets des travaux de nos prédécesseurs en introduisant soit dans la préparation d'un vaccin, soit dans le mode de traitement des animaux, certaines modifications destinées à préciser quelque point particulier laissé obscur dans ces recherches ou quelque hypothèse nouvelle qu'elles auraient suggérée.

C'est ainsi qu'en nous plaçant dans des conditions d'expérience quelque peu différentes, chauffage plus ou moins poussé d'un vaccin, doses plus ou moins massives injectées, nous nous sommes efforcée de noter le plus exactement possible les obser-

ventions relevées sur le comportement de nos animaux, pour les ajouter à celles précédemment recueillies. Notre ambition a été d'effectuer le travail d'un ouvrier consciencieux apportant finalement quelques éléments nouveaux au faisceau de faits déjà réunis, espérant que de la confrontation de cet ensemble de résultats expérimentaux, patiemment recueillis et classés, pourra un jour peut-être jaillir quelque lumière sur ce passionnant problème.

HISTORIQUE

Une fois l'origine microbienne de la tuberculose bien établie, et l'agent responsable connu et étudié, d'innombrables chercheurs ont essayé d'utiliser ce bacille pour lutter contre la maladie en employant des méthodes analogues à celles déjà mises au point, depuis les découvertes de PASTEUR, et appliquées avec succès dans un grand nombre d'infections microbiennes.

Les difficultés auxquelles on s'est heurté dans ce cas particulier expliquent le grand nombre et la diversité des essais effectués. C'est ainsi que la sérothérapie et la vaccinothérapie furent envisagées en même temps avec un succès variable ; on fit appel non plus au corps microbien dans son intégrité mais à des fractions, à des produits biologiques retirés des bacilles, et l'on essaya même de mettre en jeu l'action bactéricide de divers produits chimiques dans des traitements chimiothérapiques purs.

Nous n'avons pas l'intention de faire l'historique complet de ces recherches, ce travail nous entraînerait hors des limites que nous nous sommes fixées ; nous ne parlerons pas davantage des travaux sur la séro-agglutination et la formule leucocytaire, toute la documentation nécessaire a déjà été consignée dans des études antérieures à la nôtre effectuées dans les laboratoires de M. le Professeur HOLLANDE.

Nous nous bornerons donc, après avoir signalé les grandes lignes de cette histoire, à préciser certains points qui ont fait

l'objet de recherches relativement récentes, et qui se rapportent plus spécialement à celles que nous avons entreprises.

Nous ne citerons que pour mémoire les essais de sérothérapie dont les premiers remontent en 1888 à RICHET et HÉRICOURT qui traitaient des sujets tuberculeux par des injections de sérum de chien inoculé au préalable par du bacille aviaire, puis du bacille humain ; bien que certains de ces sérums soient entrés dans la thérapeutique, tels les sérums de MARAGLIANO, de MARMOREK, de VALLÉE, de JOUSSET, on a, en fait, abandonné cette médication qui s'est révélée inefficace, car s'il est possible de faire naître ainsi dans un sérum des anticorps, même en abondance, ceux-ci se révèlent incapables, semble-t-il, de lutter contre les microbes ; ils sont simplement des témoins de l'infection dans l'organisme et non un moyen de lutte contre les germes infectants ; il n'y a donc pas de rapports entre leur présence et un état d'immunité ; c'est ce qui ressort des recherches de CALMETTE, BOQUET et NÈGRE (1926).

Plus encourageants se montrèrent les essais de vaccination, et d'innombrables méthodes furent bâties et préconisées, utilisant les procédés les plus divers.

On essaya d'abord les méthodes déjà éprouvées, qui consistaient en l'emploi, émulsionnés en eau physiologique, de bacilles tués par la chaleur ou atténués par divers agents physiques (radiations lumineuses) ou chimiques : eau de Javel, eau-iodée (VALLÉE, 1909), fluorure de sodium, oléate de sodium (NOGUCHI), choline ou ovolécithine (DEYCKE et MUCH, 1909), formol (RABINOWTISCH, 1913), diastases telles le suc de *Drosera* (LOEFFLER, 1913), lipase, etc...

Devant les faibles résultats obtenus, on a pensé que l'immunité ne pouvait être conférée que par des bacilles de virulence variable, mais vivants, et dans ce groupe se placent, à côté de quelques tentatives effectuées à l'aide de bacilles virulents (GÉRALD WEBB et W. WILLIAMS, SELTER, 1924) vite abandonnés par suite de l'extrême danger que présente leur inoculation, toute une série de vaccins basés sur l'emploi de bacilles vivants atténués de diverses manières.

Les premiers essais datent de 1886 où CAVAGNIS essaya une

émulsion de crachats en eau phéniquée ; ce sont notamment le bovovaccin de BEHRING (1902) (B.K. humains), le Tauruman (R. KOCH, 1905) où les bacilles, humains et bovins, sont atténués par cultures successives en bouillon glycérimé, le B.K. homogène de S. ARLOING (1906) essayé sur des bovidés, mais dont l'expérimentation fut interrompue par la mort de son auteur ; certaines souches lisses, obtenues après diverses recherches effectuées par L. NÈGRE, J. VALTIS et J. BRETEY. Ces souches, de virulence atténuée, proviendraient d'éléments filtrables du bacille introduits par injection, chez des cobayes, de sang ou de filtrats de culture ou d'organes tuberculeux, et activés par des injections répétées d'extrait acétonique de B.K. Les organes ensemencés sur milieu de LOEWENSTEIN donnent parfois aussi des colonies lisses de virulence moindre que le B.K. bovin et dont l'emploi a apporté une certaine résistance chez les animaux (cynocéphales).

SCHIGA (1917) a essayé un bacille atténué par culture en présence de trypaflavine ; R. ARIMA, K. AOYAMA, J. OHNAWA (1924) ont atténué le bacille humain et supprimé sa virulence par culture sur milieu additionné de saponine (provenant d'un *Sapindus*). VAUDREMER (1926) obtint une modification du bacille par macération dans un extrait d'*Aspergillus fumigatus*.

Dans l'ensemble ces méthodes se sont révélées plus efficaces que celles utilisant le bacille mort, mais leur emploi n'est peut-être pas dépourvu de danger, car il est toujours possible que ces bacilles puissent tôt ou tard récupérer dans certaines conditions une partie de leur virulence.

Signalons d'ailleurs d'autres méthodes qui, pour éviter cet inconvénient, ont fait appel à des bacilles paratuberculeux, acido-résistants, mais incapables de donner la tuberculose : bactérie de l'orvet de MOELLER (1897), bacilles retirés de la salamandre (KLIMMER, 1908), de la tortue (FRIEDMANN, 1904) ; FERRAN (1913) a aussi utilisé une bactérie intestinale, la bactérie alpha, non acido-résistante, qui, d'après lui, serait à l'origine du B. K.

Mais tous ces vaccins se sont révélés à peu près inefficaces. Les seuls résultats vraiment intéressants furent obtenus par

CALMETTE et GUÉRIN (1906) qui ont réussi à créer une race fixée, dépourvue de pouvoir pathogène, par culture en milieu bilité avec repiquages successifs pendant une longue période (13 ans). Le vaccin ainsi préparé, dénommé B.C.G., utilisé actuellement sur une vaste échelle, en médecine infantile, semble donner jusqu'ici des résultats fort satisfaisants.

Au fur et à mesure que l'étude de ce bacille se poursuivait, des notions nouvelles étaient apportées, et d'autres orientations furent données aux recherches. La découverte du phénomène d'allergie et de ses relations avec l'immunité a mis en évidence l'importance de l'excipient dans lequel sont émulsionnés les corps microbiens, et c'est ainsi que diverses tentatives furent faites en utilisant comme milieu non plus le sérum physiologique, mais des corps gras divers.

Les relations de certains corps gras avec le développement de l'infection tuberculeuse ont du reste été étudiées ; c'est ainsi que l'on peut mettre en évidence leur action activante sur des lésions déjà existantes. Telle est la conclusion des travaux de NÈGRE sur l'huile d'olive (1932), l'huile de foie de morue (1932) et les corps gras extraits par l'acétone de divers organes d'animaux (1933), travaux de BERTHELOT, NÈGRE et BRETEY (1941) sur l'huile d'olive et le succinate d'éthyle, travaux de JULLIEN (1925) sur l'huile cholestérinée, de RIX et SCHADTLER (1938) sur l'huile de lin pure ou cholestérinée, de LAPORTE (1939) sur l'huile de paraffine. Ces substances paraissent parfois agir défavorablement en fixant les corps microbiens de façon élective, facilitant ainsi leur développement rapide en certains points et par conséquent la création de lésions.

D'autre part ces mêmes corps gras ont pu avoir au contraire une action favorable : recherches de DARZIUS (1938) sur les huiles de pin et de chaulmoogra qui, inhalées, retarderaient l'évolution des lésions ; l'auteur explique ces faits par une action bactéricide et d'autre part stimulante sur la prolifération du tissu conjonctif. TODOROFF (1927) a signalé l'action dégradante de l'huile de paraffine sur le B.K. après un temps de

contact suffisant, se traduisant par un affaiblissement de la virulence.

Dans ces préparations l'excipient agit donc par sa nature même et d'autre part de façon mécanique, en localisant la masse microbienne au point d'injection et rendant la diffusion très lente. C'est ainsi que des bacilles morts, qui se sont révélés à peu près inefficaces en sérum physiologique, deviennent en émulsion huileuse fortement allergisants et même, dans certaines conditions, immunisants.

De nombreux et très intéressants travaux ont été publiés sur cette question ; VALLÉE (1924) emploie un vaccin constitué par des bacilles d'origine équine émulsionnés dans de l'huile de vaseline additionnée de talc ou de grès porphyrisé.

LAGRANGE (1936) enrobe les bacilles dans de la lanoline ou du tapioca et constate que la virulence est fortement atténuée, tandis que le pouvoir immunisant persiste.

SAENZ (1937) compare, sur le cobaye, la valeur de l'allergie obtenue avec des excipients gras variables, d'origine végétale ou animale ; il constate que l'emploi du jaune d'œuf ou de la lanoline ne change pas le degré de l'allergie produite par le bacille mort. Par contre, un enrobage dans une huile végétale telle que l'huile d'olive, accroît l'intensité des réactions allergiques de façon notable et les rend comparables à celles provoquées par le bacille vivant. Mais les huiles minérales se révèlent de beaucoup les plus favorables : c'est ainsi qu'avec l'huile de paraffine, l'allergie obtenue est, de beaucoup, plus intense que précédemment, et beaucoup plus rapide à s'établir.

SAENZ (1937, 1938) poursuit alors ses recherches sur l'huile de paraffine en étudiant les caractères de l'allergie produite et son mécanisme. Il a pu avec CANETTI (1939), reproduire des lésions à distance par inoculation intratesticulaire de bacilles morts, ainsi enrobés ; les poumons sont fortement attaqués, hyperhémisés, avec de nombreuses taches ulcéro-caséeuses et des lésions extrêmement graves.

Il est donc possible de reproduire ainsi avec des bacilles morts, des manifestations que l'on croyait jusque là liées à la vie du microbe. SAENZ fait remarquer cependant que l'aug-

mentation du pouvoir allergique ne s'accompagne pas d'une progression parallèle de l'immunité, car les cobayes traités n'apparaissent pas protégés contre une infection tuberculeuse.

COULAUD (1934-1936) constate que l'injection de bacilles morts, enrobés dans de la paraffine solide produit une allergie intense qui persiste plusieurs années, résultat qu'on n'a pu obtenir jusqu'alors avec tout autre excipient. Le développement de l'allergie est accompagné de l'apparition d'une certaine immunité, mais celle-ci est transitoire et disparaît alors que l'allergie est encore très forte ; d'autre part, il injecte à un cobaye neuf le caséum de l'abcès formé au point d'injection chez le premier animal, et voit apparaître chez le second, en même temps qu'une allergie durable, une immunisation réelle.

RIST (1938), reprenant les travaux de COULAUD sur l'allergie produite par le bacille mort, enrobé dans de la paraffine fondue, arrive aux mêmes conclusions, et s'attache tout particulièrement à l'étude des lésions métastatiques pulmonaires et ganglionnaires qui apparaissent en pareil cas, et qui sont la conséquence de la migration lente de l'excipient dans l'organisme aboutissant finalement à sa fixation en certains points où la lésion ne tarde pas à se développer.

Ces inconvénients, malgré les résultats favorables obtenus, ne permettent donc guère d'envisager l'emploi de tels vaccins chez l'homme.

Il était en tout cas prouvé que la vie du bacille n'était pas indispensable pour reproduire ses manifestations ; des recherches nombreuses et de plus en plus poussées sur sa composition chimique en ont établi toute la complexité, et certains auteurs émirent l'hypothèse que ces divers principes étaient d'activité variable, les uns favorables, les autres nuisibles ; un intérêt tout spécial fut accordé aux matières grasses qui entrent pour une bonne part dans l'édifice du corps microbien. De là de multiples essais de vaccins dans lesquels les bacilles sont privés, par des techniques variables, de certains principes, gras pour la plupart.

CANTACUZÈNE (1905) obtient des résultats avec des bacilles

dégraissés par l'alcool méthylique, puis par l'éther de pétrole et par la solution iodo-iodurée de Gram.

VALLÉE (1906) tente un essai de vaccination avec des bacilles dégraissés longuement à l'éther de pétrole.

DREYER (1923) prépare un vaccin dit « Diaplyte » avec des bacilles traités au formol et chauffés, puis dégraissés par l'acétone. Ils perdent ainsi leur acido-résistance et leur colorabilité par le Gram ; après dessiccation, ils sont émulsionnés en eau physiologique.

MACHEBŒUF et DIERYCH (1935) utilisent des bacilles frais sur lesquels ils font agir des solvants à froid et dans le vide. C'est ainsi que, successivement, par l'eau ils enlèvent le milieu de culture, qui imprègne encore les bacilles, puis, par l'acétone, de nombreux lipides et glucides toxiques et enfin, par l'éther, des lipides complexes. Les bacilles, remis en suspension en eau physiologique, sont injectés à des lapins qui, tuberculisés, se montrent nettement plus résistants que les témoins.

Des essais de séparation plus poussés, dans le but d'isoler le plus possible les principes favorables des nocifs, amenèrent certains auteurs à utiliser non plus les corps bacillaires plus ou moins dégraissés, mais certains principes, de complexité variable, extraits du bacille.

C'est ainsi qu'on essaya des traitements par la tuberculine, plus ou moins purifiée par divers procédés, mais les résultats ne furent guère favorables ; on s'aperçut que cette substance n'était pas capable de conférer une immunité quelconque, pas plus que d'amener la création d'anticorps chez un sujet sain, et n'augmentait guère leur proportion chez les tuberculeux. De plus son emploi n'était pas sans danger.

MUCH (1920) a émis la théorie des antigènes partiels, obtenus en faisant réagir sur le bacille un acide faible, tel l'acide lactique ; il obtient ainsi un produit soluble dans l'eau, qu'il élimine car toxique (tuberculine vraie), et une portion insoluble qui peut se décomposer en albumine, lipoïde et graisse, ces trois substances, ou antigènes partiels, agissant chacune pour son propre compte sur l'organisme et faisant naître les anticorps spécifiques correspondants ; leur ensemble est indispensable pour obtenir

l'immunité et certains résultats favorables auraient été ainsi obtenus par KLOPSTOCK (1920), KLEMPERER (1920) et DÜLL (1921).

Les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus par BOQUET et NÈGRE (1921, 1922, 1923, 1925, 1929, 1930) qui, au lieu d'utiliser l'ensemble des divers constituants du corps micobien, s'aperçurent, par une séparation plus poussée de ces principes, que leurs activités — selon la conception d'AUCLAIR — étaient très différentes, parfois même opposées ; ils s'attachèrent à extraire les substances actives dans l'immunité après élimination de celles qui étaient inutiles ou nuisibles.

C'est ainsi qu'ils prouvèrent (1929) que les graisses extraites par l'acétone étaient éminemment nuisibles ; injectées dans un organisme tuberculeux, elles aggravaient considérablement les lésions et précipitaient l'issue fatale. Nous avons déjà vu qu'elles étaient capables de produire une activation in vivo de l'ultra-virus apporté par des produits tuberculeux, activation se traduisant par la présence de lésions et la possibilité d'inoculer un autre animal et même d'isoler une souche. Cet extrait acétonique n'a d'ailleurs pas de propriétés antigéniques, il ne produit pas d'anticorps.

Par contre, les lipoides extraits par l'alcool méthylique après dégraissage à l'acétone, témoignent d'un grand pouvoir antigénique ; leurs propriétés fixatrices sont plus élevées que celles des corps bacillaires intacts ou dégraissés. BOQUET et NÈGRE (1922, 1929) ont injecté cet extrait après avoir éliminé l'alcool qu'ils remplacèrent par de l'eau physiologique, et purent constater sa faible toxicité chez des animaux sains, ainsi que son action favorable sur l'organisme tuberculeux où il se comporte comme un bon antigène ; cet antigène méthylique pur ou dilué a d'ailleurs été appliqué, non sans succès, en thérapeutique.

Injecté à des animaux tuberculeux, on a pu obtenir une amélioration sérieuse par rapport aux témoins : survie plus longue, meilleur état général, diminution du nombre des lésions et tendance à la sclérose des foyers ; cet effet favorable est détruit si l'on traite en même temps les animaux par un extrait

acétonique et il suffit même d'un mauvais dégraissage à l'acétone pour neutraliser les bons effets de l'antigène.

Cet antigène a d'ailleurs été étudié par d'autres auteurs. MACHEBŒUF (1935) et ses collaborateurs, qui en ont tenté la purification, ont montré que les lipoides purs avaient une activité haptène intense, mais perdaient le pouvoir de faire naître des anticorps ; l'extrait de BOQUET et NÈGRE, non purifié, contiendrait donc en impuretés certaines substances, protéïdes ou polyholosides, qui, adsorbées sur le support lipoïdique, donneraient des complexes actifs comme antigène.'

L'étude de la constitution chimique du B.K. et de l'activité de ses divers constituants a marqué un nouveau pas en avant avec les intéressants travaux de Mlle CHOUCROUN (1939, 1940) ; cet auteur, à l'aide d'huile de paraffine, a pu extraire du corps microbien, par macération, une substance qui isolée et remise en suspension dans de l'huile vierge est capable de produire des lésions à distance, propriété qui, d'abord considérée comme un attribut du bacille vivant seul, fut reconnue par la suite (SAENZ, 1938), (RIST, 1938) aux bacilles morts sous réserve de les enrober dans cette même huile de paraffine.

Cette substance active a été isolée, son étude physico-chimique a décelé la présence d'une fonction acide-alcool, la formation d'une lactone, d'*acide phtioïque* et d'un sucre, mais seule la molécule complexe est active.

Ces travaux témoignent donc d'une orientation de plus en plus nette vers la fragmentation du corps microbien. On a montré que la vie du bacille n'est pas nécessaire, pour la production des lésions, et seule une étude physico-chimique très poussée paraît à l'heure actuelle devoir apporter une solution aux problèmes que posent le mécanisme de l'infection tuberculeuse et l'établissement de l'immunité.

GÉNÉRALITÉS

PLAN DU TRAVAIL

Comme nous l'avons précisé dans notre introduction, ce travail est une contribution à l'étude de divers produits dont la plupart ont déjà fait l'objet de recherches antérieures, notamment dans les laboratoires de M. le Professeur HOLLANDE.

C'est ainsi que nous avons d'abord repris les travaux de Mlle BORIFAX (*Thèse de Doctorat en Pharmacie, 1941*) sur les principes extraits des corps microbiens par des lipides (huile d'olive additionnée de 1,5 % de lanoline).

L'extraction effectuée à chaud, sur des bacilles entiers, puis sur des bacilles partiellement délipidés par l'acétone, nous a donné deux séries de produits que nous dénommons respectivement « *vaccin huileux complet* » et « *vaccin huileux acétonique* » avec lesquels nous avons entrepris, sur le lapin, un essai de vaccination préventive pour le premier, curative pour le second.

Le vaccin huileux complet a été, en outre, l'objet d'un traitement particulier, que nous qualifierons, assez improprement, de « curatif », car l'injection d'épreuve a été pratiquée à l'aide d'une émulsion de B.K. homogène, souche dépourvue de virulence pour le lapin, notre but étant précisément de vérifier si ces bacilles placés, *in vivo*, en contact d'extrait

lipidique joint au corps gras, sont susceptibles de retrouver en partie leur virulence.

Les animaux destinés aux traitements préventif et curatif proprement dit subissent une tuberculisation par des bacilles virulents, en même temps qu'un certain nombre de lapins neufs, qui joueront le rôle de témoins et dont les réactions seront comparées à celles des animaux traités.

Poursuivant nos recherches sur les principes lipidiques des B.K. nous avons essayé ensuite sur le lapin un traitement à base de bacilles homogènes partiellement délipidés par l'acétone et émulsionnés en sérum physiologique. L'étude de ce « *vaccin acétone aqueux* » déjà entreprise par Mlle BORIFAX, est faite surtout en vue de préciser la toxicité de ce produit et son pouvoir de créer un taux d'agglutination élevé.

Une étude analogue est effectuée parallèlement sur l'« *anti-gène méthylique dilué* » de NÈGRE et BOQUET, qui est constitué par les lipides phosphatidiques du B.K. Cette étude nous a été inspirée par les recherches antérieures de Mlle GUERRE (*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1941.*)

Sur certains des sujets ainsi préparés nous pratiquerons des injections de divers extraits bacillaires pour étudier leur action sur le comportement de nos animaux et en particulier sur le taux des agglutinines que le traitement préalable avait fait naître dans leur sérum. C'est ainsi que nous avons essayé un « *extrait acétonique* », un « *extrait trichloracétique* » de B.K. homogène. Notre intention était aussi de faire une étude analogue sur un extrait par l'huile de paraffine de B.K. bovins virulents, dont les propriétés remarquables ont été mises en lumière par les récents travaux de Mlle CHOUCROUN (1). Nous voulions aussi utiliser d'autre part une association d'extrait trichloracétique et d'un extrait éthéro-chloroformique, mais la

(1) Mlle Nine CHOUCROUN : Lésions tuberculeuses produites à distance par une substance chimique définie, extraite du bacille. Premières données sur la constitution de cette substance. (*C. R. Acad. Sciences*, t. CCX, mai 1940, pp. 749-750.)

perte d'un certain nombre de nos animaux à des stades plus ou moins avancés de leur préparation nous a empêché de remplir notre programme et nous oblige à présenter ici une étude incomplète à ce sujet.

Pour mettre en lumière l'effet de ces divers traitements sur nos animaux, nous ferons constamment appel à un ensemble de techniques destinées à nous renseigner sur l'action favorable ou nocive du produit essayé.

C'est ainsi que nous pratiquerons la pesée régulière des lapins tous les dix jours et nous établirons des courbes de variations de poids, rapportées à 100 g. d'animal, qui permettront de comparer plus facilement les résultats.

La réaction de séro-agglutination, selon la technique de HOLLANDE, pratiquée à intervalles réguliers, tous les vingt jours environ, nous fournira des indications sur la création d'anticorps et leur variation au cours du traitement. Un étalement effectué au moment de la prise de sang nous permettra d'établir les formules leucocytaires dont de nombreux travaux ont révélé l'importance et la sensibilité comme élément de diagnostic et de pronostic.

Enfin l'autopsie de l'animal nous fournira des indications précieuses sur son degré de résistance.

Notons aussi quelques injections intradermiques de vaccin, destinées à vérifier l'état allergique de certains sujets.

Nous préciserons d'ailleurs dans un premier chapitre les techniques utilisées pour ces diverses méthodes d'investigation ; nous indiquerons aussi le mode de préparation de chaque vaccin ou extrait microbien utilisé et les techniques mises en œuvre au cours du traitement.

Les essais de vaccination par filtrat huileux feront l'objet du second chapitre.

Le troisième chapitre sera consacré aux essais de préparations aqueuses à base de bacilles dégraissés ou d'extraits lipidiques, sur des animaux non tuberculisés.

Enfin, dans un appendice nous réunirons quelques résultats

de réactions d'agglutination effectuées sur des sérums d'origine humaine. Nous nous sommes proposé dans cette étude de rechercher ce que devient le taux des agglutinines après contact du sérum, selon une technique appropriée, avec le vaccin huileux complet ; nous ferons la comparaison avec des témoins faits avec l'excipient huileux seul et nous essayerons, à côté des sérums de malade, ceux d'individus sains.

Tel est, dans ses grandes lignes, le plan de notre travail.

CHAPITRE PREMIER

Méthodes et techniques

Nous exposerons d'abord les divers modes de préparation de nos vaccins, nous verrons ensuite comment ils sont employés, et en dernier lieu nous donnerons quelques détails sur les principales méthodes mises en œuvre pour suivre la réaction de l'animal.

I. — TECHNIQUES DE PRÉPARATION DES VACCINS ET EXTRAITS MICROBIENS

Quelle que soit la diversité des préparations, elles s'effectuent à l'aide d'un certain nombre de techniques générales que nous allons exposer en premier lieu. Nous verrons ensuite le mode opératoire adopté pour chaque cas.

A) Techniques générales.

1^o) SOUCHES MICROBIENNES UTILISÉES.

a) Tous nos vaccins et la plupart des extraits sont préparés à l'aide d'une souche de B.K. d'origine humaine, obtenus homogènes en milieu liquide par S. ARLOING. Cette souche a

été repiquée par Mme HOLLANDE sur milieu solide et depuis entretenue régulièrement par repiquage tous les 4 à 5 jours sur le milieu (SABOURAUD glyciné) dont la constitution est la suivante :

Glucose	10 g.
Peptone	10 g.
Gélose	18 g.
Glycérine	50 g.
Eau de source ...	1000 cc.

Après macération de la gélose pendant 12 heures dans l'eau, celle-ci est éliminée le plus complètement possible par expression. On ajoute les autres éléments dans les proportions indiquées et le tout est porté à l'autoclave pour provoquer la liquéfaction du mélange ; on filtre à chaud, on répartit en tubes qui sont stérilisés ensuite 20 minutes à 115°. Pour le refroidissement, les tubes sont inclinés de façon convenable et, après solidification, le milieu se présente sous forme d'une nappe jaunâtre, brillante et translucide, étalée sur une paroi du tube.

L'ensemencement est effectué avec une anse de platine ; on obtient en 48 heures une strie épaisse d'un blanc crémeux qui se colore en jaune par vieillissement.

On utilise pour la préparation des vaccins la culture âgée de 48 heures qui correspond au « stade jeune » de Hollande. Elle est pratiquement avirulente pour le lapin.

b) Pour la tuberculisation, la souche virulente utilisée est le B.K. bovin de DUPRAY, entretenu sur pomme de terre glycinée, par repiquage tous les mois. On utilise une culture âgée de 12 à 13 jours.

2°) EMULSION.

a) *B.K. homogène*. — Ces bacilles s'émulsionnent très facilement, dans le mélange huile d'olive - lanoline, aussi bien que dans le sérum physiologique (Cl Na à 7,50 ‰). Une portion de culture, prélevée à l'aide du fil de platine, est très soigneusement dilacérée sur la paroi du tube, un centimètre environ au-dessus du niveau du liquide. Le tube, incliné, est roulé

ensuite lentement entre les doigts de façon à entraîner peu à peu les bacilles dans le liquide. On obtient ainsi une émulsion parfaitement homogène et stable pendant 48 heures au minimum.

b) *B.K. bovin de Dupray*. — L'émulsion destinée à la tuberculisation demande une technique un peu plus délicate, le bacille étant beaucoup moins émulsionnable que le précédent. On emploie de l'eau carbonatée à 0,10 ‰ et l'on opère dans un tube stérile, en verre épais, qui contient des billes de verre au contact desquelles on dépose une petite quantité de culture ; ces billes ont été au préalable humectées d'eau carbonatée ; on agite énergiquement le tout et l'on arrive par additions successives de liquide à avoir finalement une émulsion homogène, qu'il est nécessaire cependant de décanter une demi-heure après, et, une seconde fois, au bout de 12 heures de repos à la glacière.

3^o) NUMÉRATION.

L'émulsion est titrée pour pouvoir la ramener au taux voulu par une dilution convenable.

Pour cela deux techniques sont à notre disposition, la numération à l'hématimètre et la néphélométrie.

a) *Numération à l'hématimètre*. — Cette méthode s'emploie en particulier pour les émulsions destinées à la tuberculisation. On l'effectue à l'hématimètre de Malassez après passage à l'autoclave (120°) d'une partie de l'émulsion et coloration au bleu de Nil selon la technique de A. Ch. HOLLANDE et Mlle G. CRÉMIEUX. Les émulsions de tuberculisation utilisées contiennent 40.000 B.K. bovins par centimètre cube.

b) *Numération au néphélomètre*. — On utilise le néphélomètre de HELIGE, essentiellement constitué par une cellule photo-électrique en relation avec un microvoltmètre dont l'aiguille se déplace plus ou moins sur un cadran gradué, selon l'opalescence de l'émulsion interposée sur le trajet des rayons lumineux. L'appareil a été étalonné au préalable à l'aide d'émulsions dont les taux ont été établis à l'hématimètre ; il a été

graduée pour des émulsions en eau physiologique et des émulsions huileuses. Cette méthode est utilisée couramment pour les émulsions de B.K. homogène préalablement tués à l'autoclave après dilution convenable, la numération étant plus précise si l'on opère avec des taux voisins de 100 à 200 millions par cc.

4^o) FILTRATION.

Un certain nombre de préparations utilisées au cours de notre expérimentation sont constituées par divers principes extraits des corps microbiens à l'aide d'un excipient ; celui-ci a été complètement privé de bacilles par filtration.

Nous utilisons pour cela des bougies de porcelaine L₃ et l'on opère sous un vide partiel obtenu par la trompe à eau, en observant toutes les conditions d'aseptie nécessaires.

Telles sont les principales techniques dont nous avons fait constamment usage dans la préparation de nos vaccins.

B) Techniques particulières.

(Tous nos vaccins sont préparés à partir d'une culture de B.K. homogène développée sur milieu solide de SABOURAUD modifié, et âgée de 48 heures.)

1^o) VACCIN HUILEUX COMPLET.

Nos vaccins huileux sont à base d'un mélange d'huile d'olive et de lanoline obtenu en ajoutant 1 g. 50 de lanoline à 100 g. d'huile d'olive lavée à l'alcool (supplément du Codex 1908). On chauffe le tout au bain de sable jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène. On stérilise en tube scellé 25 minutes à 115°. Une certaine quantité de ce mélange est placée dans un gros tube à essai ; on fait une émulsion épaisse avec une culture de B.K. homogène âgée de 48 heures. Cette émulsion, après numération au néphélomètre est ramenée au taux de 2 milliards par cc., puis portée à 120° pendant une demi-heure ; cette opération a pour but d'amener une dissolution plus poussée dans l'huile, de certains principes, notamment des lipides ; le chauffage détruit aussi les diastases bacillaires et l'ultra-virus.

A la sortie de l'autoclave nous constatons d'ailleurs que l'émulsion est moins opalescente. La filtration est effectuée immédiatement, pour éviter l'élimination de principes solubles à chaud, mais précipitant par refroidissement.

2^o) VACCIN HUILEUX ACÉTONIQUE.

Par une technique identique à la précédente on prépare dans du sérum physiologique une émulsion-mère concentrée (8 milliards par cc.) que l'on autoclave 10 minutes à 110°. Une certaine quantité de cette émulsion, additionnée d'un égal volume d'acétone, est placée à la glacière ; l'acétone est renouvelée à trois reprises à 24 heures d'intervalle ; la nécessité de ne pas retirer de corps microbiens rend ces lavages délicats, car si pour les derniers on observe de gros amas réunis au fond du tube ou tombant rapidement après une légère agitation, au début par contre le dépôt est très léger et le liquide est légèrement opalescent ; c'est pourquoi il a été nécessaire, à deux reprises, de le prélever, de le centrifuger légèrement, le culot microbien étant ensuite entraîné dans le tube par un peu d'acétone.

Le 4^e jour, l'acétone est éliminée le plus complètement possible ; on termine l'opération par évaporation au bain-marie, puis à l'étuve à 37°.

On ajoute alors au dépôt complètement desséché l'huile-lanoline, de façon à avoir 10 milliards de B.K. par cc. On rétablit l'émulsion le plus complètement possible et l'on porte à l'autoclave 35 minutes à 120°. La filtration, tout comme précédemment, est effectuée au sortir de l'autoclave, sur l'émulsion encore chaude.

3^o) VACCIN ACÉTONE AQUEUX.

Le vaccin est constitué ici par une émulsion en sérum physiologique de bacilles tués et dégraissés par l'acétone. Une première émulsion contenant 2 milliards par cc. est autoclavée à 110° pendant 10 minutes, puis additionnée de son volume d'acétone. Le tout est laissé 48 heures à la glacière.

L'acétone est renouvelée 4 fois pendant 4 jours consécutifs ;

après une dernière décantation, des lavages (au sérum physiologique) du dépôt microbien sont poursuivis jusqu'à réaction de Legal négative ; les bacilles sont alors remis en émulsion aqueuse ; une nouvelle numération est nécessaire si des corps microbiens ont passé dans les liquides de lavage.

4^o) EXTRAIT ACÉTONIQUE.

Nous partons encore d'une culture de 48 heures de B.K. homogène forme jeune dont on fait une émulsion en sérum physiologique à 4 milliards par cc. Après un séjour de 10 minutes à l'autoclave à 110°, un centimètre cube est prélevé, mis au contact de 19 cc. d'acétone, et l'on abandonne 12 jours à la glacière, en agitant de temps en temps le tube.

Le douzième jour l'acétone limpide est recueillie en évitant soigneusement d'entraîner tout corps microbien. On ajoute au résidu 4 cc. d'acétone qu'on laisse au contact pendant 3 jours ; tout le liquide est ensuite recueilli, centrifugé — car il est légèrement opalescent — et, après décantation, ajouté à l'acétone du premier lavage. On ferme le tube par plusieurs épaisseurs de gaze et l'on abandonne jusqu'à évaporation complète de l'acétone.

Le résidu, qui contient les produits d'extraction de 4 milliards de B.K., est émulsionné au moment de l'injection dans 1 cc. de sérum physiologique à l'aide d'un agitateur dont on frotte énergiquement la paroi du tube.

5^o) ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ.

Cet extrait est livré par l'Institut Pasteur de Paris en ampoules de 1 cc. Il est préparé selon la technique de L. NÈGRE et A. BOQUET, et contient des principes phospholipidiques extraits par l'alcool méthylique sur des B.K. partiellement dégraissés à l'acétone.

6^o) EXTRAIT TRICHLORACÉTIQUE.

Nous nommerons ainsi un extrait dont la préparation est inspirée par les travaux de A. BOIVIN pour l'obtention d'un antigène gluco-lipidique ; elle a été effectuée selon une tech-

nique spéciale, par les soins de M. BESSIÈRE, aux Laboratoires de M. le Professeur HOLLANDE ; elle consiste essentiellement en l'extraction de certains principes par l'acétone après action de l'acide trichloracétique.

II. — ADMINISTRATION DE CES PRODUITS.

Tous nos lapins sont traités par injections soit sous-cutanées, soit intraveineuses. Nous avons eu l'occasion de pratiquer aussi quelques injections intradermiques.

Les émulsions-mères ou extraits concentrés dont nous venons de voir la préparation sont dilués au moment de l'emploi de façon convenable ; les injections sont pratiquées à l'aide d'une seringue stérile et d'une aiguille plus ou moins fine selon la nature du liquide et le mode de traitement. On opère toujours de façon stérile.

1^o) INJECTIONS SOUS-CUTANÉES. — Elles sont pratiquées dans le tissu sous-cutané à la face interne de la cuisse. Si le traitement se répète on opère alternativement sur chaque cuisse.

2^o) INJECTIONS INTRAVEINEUSES. — L'injection est faite dans une veine de l'oreille, de préférence la marginale, dont on a provoqué au préalable le gonflement par friction énergique entre les mains.

Le traitement ne peut être alterné aux deux oreilles si l'animal doit être tuberculisé, car une oreille intacte est réservée à l'injection d'épreuve, effectuée aussi par voie intraveineuse.

3^o) INJECTIONS INTRADERMIQUES. — Le liquide est injecté dans le derme sur le flanc (préalablement rasé) à l'aide d'une aiguille très fine que l'on enfonce dans un repli de peau maintenu entre les doigts. On laisse la peau reprendre sa position et l'on pousse l'injection : on observe un décollement de l'épiderme, de forme arrondie, formant une saillie très nette.

III. — TECHNIQUE ET MÉTHODES UTILISÉES POUR SUIVRE LA RÉACTION DES ANIMAUX TRAITÉS.

1^o) **Pesées.**

Les animaux traités sont pesés le plus régulièrement possible, tous les 10 jours, à la même heure, à jeun de préférence. On note les poids obtenus et on en établit les variations d'une pesée à l'autre. Cette différence est rapportée à 100 g. du poids de l'animal; la courbe des pourcentages ainsi obtenus, en fonction du nombre de jours, donne des indications sur l'état de l'animal, la chute brusque ou régulière étant un mauvais pronostic. Il faut tenir compte aussi ici du facteur de croissance, car nous utilisons des animaux qui pour la plupart n'ont pas atteint l'état adulte.

Nous tiendrons compte dans la traduction de nos courbes, du poids initial, du poids final, des maxima et minima obtenus au cours du traitement, et en particulier du poids au moment de la tuberculisation qui nous servira de base pour établir les pourcentages des pesées ultérieures.

2^o) **Séro-agglutination.**

Le taux des agglutinines du sérum est recherché à intervalles réguliers, de 20 jours à un mois selon les cas. Un taux croissant révèle une réaction favorable de l'animal, s'accompagnant de la formation d'anticorps; une chute brusque est observée généralement aux approches de la mort.

Pour cette recherche, nous utilisons la technique de A.-Ch. HOLLANDE et Mlle PENN qui consiste à mettre en contact des dilutions croissantes de sérum avec une même quantité d'émulsion microbienne de taux déterminé; on regarde ensuite le

degré d'agglutination obtenu pour chaque dilution, en comparant avec des témoins de l'émulsion et du sérum.

a) OBTENTION DU SÉRUM. PRISES DE SANG. — Les prises de sang se font couramment à la veine marginale de l'oreille à l'aide d'une aiguille stérile à biseau court.

La difficulté d'obtenir du sang en quantité suffisante, par cette méthode, chez certains animaux, nous a obligée parfois à faire une prise de sang intracardiaque, à l'aide d'une aiguille assez longue que l'on enfonce dans un ventricule après avoir au préalable repéré la place du cœur. Ce procédé, rapide et efficace, n'a été employé qu'exceptionnellement, car il est assez délicat et fait courir le risque de perdre l'animal.

Le sang est recueilli en tube stérile que l'on abandonne momentanément, incliné, à la température du laboratoire ; la coagulation terminée, le tube est conservé à la glacière (44°), dans une position verticale, en attendant que le sérum exsude. Parfois l'exsudation n'est pas spontanée, il est alors nécessaire de détacher le caillot des parois auxquelles il adhère, et même de le dilacérer légèrement avec l'anse.

De toutes manières, le sérum prélevé est centrifugé pour isoler les globules qui sont presque inévitablement entraînés, par suite de la faible quantité de sang dont on dispose le plus souvent.

b) OBTENTION DE L'ÉMULSION. — On utilise une émulsion, à 40 millions par cc., de B.K. provenant d'une culture de 48 heures. Ce taux est obtenu par comparaison avec un test établi au préalable, et numéré au néphélomètre. L'émulsion doit être très bien faite pour éviter un dépôt qui gênerait la traduction de la réaction. L'émulsion doit être stable pendant une durée de 24 heures au minimum.

c) RÉACTION D'AGGLUTINATION. — On effectue d'abord des dilutions croissantes de sérum avec du sérum physiologique à 7,50 ‰, dans une série de tubes : dilutions au 1/2, 1/3... 1/10. Dans une autre série de tubes, dits tubes de réaction, on

porte 1/10 cc. des dilutions précédentes et on ajoute 0 cc. 9 d'émulsion ce qui donne des dilutions finales au 1/20, 1/30... 1/100.

Deux tubes dans lesquels on met respectivement 0 cc. 2 et 0 cc. 1 de sérum donnent, complétés au centimètre cube avec de l'émulsion, les dilutions du 1/5 et du 1/10 ; enfin la dilution au 1/15 est obtenue à partir de 0 cc. 2 de sérum au 1/3 et 0 cc. 8 d'émulsion. On obtient ainsi une gamme du 1/5 au 1/100 qui suffit en général pour nos recherches. Cependant, dans certains cas, où le taux d'agglutination est très élevé et dépasse le 1/100, on opère sur des dilutions supérieures allant jusqu'au 1/200 en utilisant les dilutions de sérum correspondantes.

On prépare en outre un tube-témoin du sérum, qui en est une dilution au 1/5, et un tube-témoin renfermant l'émulsion microbienne en liquide physiologique. Ces diverses mesures sont effectuées à l'aide de pipettes stériles divisées en 1/10 cc.

Souvent, par suite de la faible quantité de sérum dont nous disposons, nous avons été obligée d'utiliser une autre méthode, qui, bien qu'offrant moins de garantie, nous a permis cependant d'avoir une indication suffisamment précise, en utilisant une quantité minime de sérum : c'est la méthode à la goutte. Les mesures sont faites à l'aide de pipettes Pasteur obtenues en étirant à la flamme un tube de verre stérile ; on sectionne à la lime en son milieu la partie étirée dont le calibre doit être aussi régulier que possible, de façon à obtenir deux pipettes identiques : l'une sert à mesurer le sérum physiologique et l'émulsion, l'autre le sérum et les dilutions.

La méthode est calquée sur la précédente, on compte les gouttes au lieu de mesurer des dixièmes de centimètre cube. Les tubes, convenablement agités, sont portés à la glacière jusqu'au lendemain.

d) LECTURE DE LA RÉACTION. INTERPRÉTATION. — La lecture se fait à la 24^e heure, exceptionnellement un peu plus tard quand il y a floculation et retard dans le dépôt des amas microbiens.

On observe chaque tube en les plaçant devant une source lumineuse et sur fond noir. Les microbes agglutinés se présentent en dépôt au fond du tube ou sur les parois, le liquide qui le surmonte a une opalescence plus ou moins prononcée selon le degré de l'agglutination. On peut évaluer le dépôt microbien par vision indirecte au moyen d'un miroir placé au-dessous du fond des tubes.

Par comparaison des divers tubes, entre eux et avec les témoins, on établit le degré d'agglutination de chacun d'eux, que l'on note de la façon suivante :

- + + + + + : Agglutination totale. Microbes en fort dépôt. Liquide limpide.
- + + + + — : Forts amas microbiens. Liquide légèrement opalescent.
- + + + — — : Dépôt microbien et opalescence assez nets.
- + + — — — : Léger dépôt opalescence nette.
- + — — — — : Très léger dépôt opalescence voisine de celle du tube témoin.

On fait dans la mesure du possible cette recherche avant tout traitement des animaux ; elle est en général négative : dans ce cas, le plus souvent, l'agglutination n'est pas totale au 1/5, ou si elle l'est, elle est partielle dans un petit nombre de tubes.

Elle devient positive lorsqu'elle est totale dans les 2 ou 3 premiers tubes au minimum, des agglutinations partielles s'échelonnant à un taux décroissant sur un assez grand nombre des dilutions suivantes.

3^o) Formules leucocytaires.

A l'occasion des prises de sang, nous avons fait des étalements sur lame, avec lesquels nous avons pu suivre les variations de la formule leucocytaire au cours du traitement. On utilise des lames propres, décapées au mélange alcool-éther et flambées. Une goutte de sang est déposée à une extrémité et étalée régulièrement à l'aide d'une autre lame que l'on déplace sur la première, convenablement inclinée, sans trop appuyer.

L'étalement est séché à l'air, puis fixé 10 minutes à l'alcool-éther. On laisse sécher et on colore ensuite par les éosinates à la soude, selon la méthode de A.-Ch. HOLLANDE. On utilise pour cela une solution alcoolique de colorant dont la composition est la suivante :

Eosinates à la soude : 3 g.

Alcool méthylique : 250 cc.

Cette solution-mère est diluée au 1/10^e avec de l'eau distillée au moment de l'emploi en prenant soin de verser le colorant filtré dans l'eau, pour plus de stabilité. Il en faut environ 5 cc. par lame. Après un contact de 35 à 40 minutes, on lave à l'eau distillée et on examine à l'objectif à immersion la lame sèche.

Les hématies ont une couleur rose très pâle. Les leucocytes ont un noyau violet, un protoplasme incolore ou bleu selon qu'il s'agit de polynucléaires ou mononucléaires. Les *polynucléaires* présentent des granulations orangées ou roses, violacées, ou couleur brique, de nombre et de taille variables, selon que l'on a affaire à des *éosinophiles*, *basophiles*, *neutrophiles* ; ces noyaux sont multilobés ou en bissac.

Les *lymphocytes* se présentent tantôt sous forme de petits globules à gros noyau arrondi, le protoplasme ne figurant que sous forme d'un mince liseret bleu (*petits lymphocytes*), tantôt sous forme de globules plus volumineux à protoplasme plus important, un peu moins coloré ; le noyau a souvent une petite encoche (*moyens lymphocytes*).

Les *monocytes* sont de gros leucocytes où le noyau est de forme plus irrégulière, souvent en bissac ; le protoplasme est plus important, mais d'un bleu plus pâle que chez les lymphocytes ; il présente parfois des granulations azurophiles.

On déplace la lame sous l'objectif et l'on note le nombre de polynucléaires, lymphocytes et monocytes rencontrés. On établit le pourcentage de chaque groupe et on calcule le rapport $\frac{\text{lymphocyte}}{\text{monocyte}}$ dont de nombreux travaux nous ont

révélé l'importance dans l'étude de la tuberculose. Les variations de ce rapport au cours du traitement sont mises en évidence par une courbe.

4^o) Autopsie.

Lorsque l'animal meurt des suites de son traitement, ou est sacrifié (on l'asphyxie à l'aide d'un tampon de coton imbibé de chloroforme), on pratique sur le cadavre une autopsie qui permet de se rendre compte de l'état de ses organes ; on note l'aspect des lésions, leur forme, leur emplacement ; les organes lésés sont d'ailleurs conservés dans du formol dilué de moitié ; des fragments sont mis dans un mélange fixateur pour permettre de faire à l'occasion une étude histologique des parties lésées.

CHAPITRE II

Essais de vaccination du lapin par extraits huileux de B. K.

Des travaux récents sur la tuberculose nous montrent l'importance attribuée actuellement aux préparations à base de corps gras, soit qu'il s'agisse de bacilles enrobés dans des huiles ou graisses d'origine végétale, animale, ou minérale, soit que l'on utilise le corps gras seul, contenant en dissolution certains principes abandonnés par les corps microbiens.

C'est ainsi qu'on a essayé d'enrober les bacilles tués, dans de l'huile d'olives pure ou additionnée d'un tiers de lanoline (Saenz, 1937), dans de l'huile de paraffine (SAENZ, 1937), dans la paraffine solide (COULAUD, 1935). Tout récemment, Mlle CHOUCROUN (1940), utilisant un extrait par macération des B.K. dans l'huile de paraffine, a montré qu'il était capable de reproduire des lésions tuberculeuses à distance, en l'absence de tout corps microbien.

Pour notre part, nos essais ont porté sur un extrait de B.K. homogène à base d'huile d'olives additionnée de 1,50 % de lanoline, produit irrésorbable destiné à retarder la libération des principes dans l'organisme, tout en facilitant l'émulsion des microbes dans l'huile. Ce mélange a déjà fait l'objet de recherches aux Laboratoires de M. le Professeur HOLLANDE, soit

tel que nous l'avons décrit (Mlle BORIFAX), soit additionné de glucose (MASSALOUX).

Dans ce chapitre nous envisagerons **d'abord un traitement par le filtrat d'une émulsion huileuse de bacilles entiers, et ensuite un traitement par un vaccin analogue, mais où les B.K. ont été au préalable dégraissés par l'acétone.**

PREMIÈRE PARTIE

TRAITEMENT

PAR LE FILTRAT HUILEUX COMPLET

Ce travail fait suite aux recherches entreprises par Mlle BORIFAX (*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1941*), mais la préparation du vaccin présente quelques différences : en effet au lieu de filtrer l'émulsion de bacilles vivants, ceux-ci ont été tués au préalable à l'autoclave à 120° pendant une demi-heure ; nous pensons ainsi avoir détruit les diastases bacillaires (lipase), l'ultra-virus, et par contre nous avons favorisé la dissolution de certains principes du corps microbien (lipoides) dans l'huile.

Nous avons eu soin d'effectuer la filtration à chaud, dès la sortie de l'autoclave, pour éviter la perte de produits passés en solution à chaud, mais se déposant par refroidissement.

Nous constatons d'ailleurs que le filtrat, à la glacière, est quelque peu opalescent, et, avant chaque injection, il est nécessaire de le laisser séjourner une demi-heure environ à l'étuve, à 37°, où il reprend sa limpidité.

Rappelons que nous avons préparé une émulsion-mère à 2 milliards de B.K. par cc., à partir de laquelle nous avons fait,

avec le mélange huile-lanoline, des dilutions à taux variables que nous avons injectées. Nous donnerons plus spécialement le nom de « *vaccin huileux complet* » à la dilution correspondant à 100 millions de B.K. / cc.

Deux séries de traitement ont été effectuées avec ce vaccin : un essai de **traitement préventif** au cours duquel les animaux sont tuberculisés en même temps que les témoins, après un certain temps de traitement ; les injections de vaccin sont poursuivies après tuberculisation.

En second lieu, les animaux sont traités **curativement**, aussitôt après l'injection d'épreuve, qui est constituée ici par une émulsion de bacilles homogènes vivants. Cette expérimentation a été établie afin de nous rendre compte si le vaccin huileux ne facilitait pas la tuberculisation du lapin inoculé avec un bacille tuberculeux vivant, avirulent et non ulcéro-caséifiant pour lui.

PREMIÈRE SÉRIE

ESSAI DE VACCINATION PRÉVENTIVE

Au cours de cet exposé nous présenterons d'abord les observations relatives à chaque animal, sur son traitement, son comportement, ses variations de poids, son autopsie. Nous verrons ensuite les résultats sérologiques, et, en troisième lieu, les formules leucocytaires.

Tel sera d'ailleurs le plan suivi dans ce travail pour chaque groupe d'animaux.

Nous étudierons dans chaque rubrique successivement les témoins, puis les animaux traités par le vaccin.

I. — OBSERVATIONS RELATIVES AUX ANIMAUX MIS EN EXPÉRIENCE.

A) Lapins témoins

Ces animaux, au nombre de quatre, T, T₁, T₂, T₃, ont été tuberculisés, le 17 mars 1942, par injection dans la veine marginale de l'oreille gauche, de 20.000 B.K. bovins virulents, souche DUPRAY, émulsionnés dans 0 cc. 5 d'eau carbonatée. Ils n'ont subi par la suite aucun traitement. Les animaux traités ont été inoculés le même jour, de façon identique.

TABLEAU DES PESÉES (Courbe page 128) :

Dates	T	T ₁	T ₂	T ₃
16 mars 1942 .. (poids initial)	1 k. 800	1 k. 820	1 k. 620	1 k. 660
13 avril.....	1 k. 710	1 k. 710	1 k. 650	1 k. 550
23 avril.....	1 k. 480	1 k. 730	1 k. 820	1 k. 780
29 avril.....	1 k. 300			
5 mai (poids final)		1 k. 630	1 k. 840	1 k. 820
13 mai mort		1 k. 700	1 k. 890	1 k. 890
23 mai 1 juin		1 k. 530	1 k. 700	1 k. 550
8 juin		1 k. 450	1 k. 600	1 k. 265
10 juin				1 k. 100
19 juin		1 k. 330	1 k. 330	(poids final)
20 juin			1 k. 170	mort
27 juin		1 k. 290	(poids final)	
		1 k. 090	mort	
		(poids final) sacrifié		

(Les poids maxima sont mis en caractères gras.)

Lapin T

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.800 g.
Poids minimum	poids final
Poids maximum	poids initial
Poids final	1.300 g.
Perte de poids à partir du poids initial ..	500 g. (— 27,7 %)
— à partir du poids maximum ..	»
Augmentation maxima (1)	pas de relevée
Mort le 29 avril après 43 jours de vie utile.	

RÉSULTATS D'AUTOPSIE :

Poumons : Un peu hyperémiés. Trois petites lésions de 1 à 2 mm. de diamètre, une à gauche, deux à droite.

Foie : Quelques taches blanches de 1 à 2 mm. de diamètre.

Rate : Dimensions normales : 5 cm. × 0 cm. 4. Présente un assez grand nombre de lésions blanches, de 2 à 4 mm. de diamètre, nettement délimitées, bosselant la surface.

Reins : Normaux.

Présence de *ganglions mésentériques*.

Lapin T₁

Ce lapin a reçu deux injections intradermiques, 83 et 92 jours après sa tuberculisation, avec du vaccin acétone huileux et du vaccin huileux complet respectivement. Les résultats en seront exposés plus loin. Il a été sacrifié le 27 juin après 102 jours de vie utile.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.820 g.
Poids minimum	poids final
Poids maximum	poids initial
Poids final	1.090 g.
Perte de poids à partir du poids initial ..	1.730 g. (— 40,10 %)
— à partir du poids maximum ..	»
Augmentation maxima	20 g.

(1) On entend par « augmentation maxima » la différence entre le poids maximum enregistré et le poids le plus faible de toute les pesées précédentes.

RÉSULTATS D'AUTOPSIE

Poumons : Dimensions normales. 3 grosses lésions de 4 à 7 mm. saillantes, un assez grand nombre de petites lésions grises.

Foie : Normal. De couleur noire.

Rate : Dimensions normales 4 cm. × 0 cm. 7 ; quelques petites lésions.

Reins : Quelques lésions caséuses de 2 mm. Trois sur le rein gauche, quatre sur le droit.

Ganglions : Un petit ganglion mésentérique hyalin, région lombaire.

Présence d'*ascite*.

Lapin T₂

Signalons que ce lapin a reçu une injection d'épreuve défec- tueuse, la dose inoculée a dû être quelque peu supérieure à celle reçue par les autres animaux.

D'autre part, il a reçu aussi des *injections intradermiques* :

Le 9 juin : 0 cc. 20 d'*extrait trichloracétique*, et 0 cc. 20 d'un *extrait éthéro-chloroformique* de B.K. Il a réagi par une élévation de température et une légère rougeur au niveau de la première injection.

Le 16 juin, il a été effectué une nouvelle intradermo-réaction sur l'autre flanc : une injection d'*eau physiologique* (0. cc 20) et une injection d'*antigène méthylique dilué* (0 cc. 20) : on a observé seulement une légère élévation de température, suivie d'une chute (34°) la veille de la mort. L'animal est mort le 19 juin, après 94 jours de vie utile.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.620 g.
Poids minimum	poids final
Poids maximum	1.890 g.
Poids final	1.170 g.
Augmentation maxima	270 g. (+ 16,6 %)
Perte de poids à partir du poids initial	450 g. (— 27,7 %)
— à partir du poids maximum ...	720 g. (— 38,1 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

A lieu le 19 juin 1942.

Poumons : Le droit est légèrement hypertrophié et plus atteint que le gauche ; les deux poumons présentent de petites lésions grises, à centre blanc, de 1/2 à 1 mm. de diamètre. Vers la pointe du poumon droit, grosses lésions étendues, dures au toucher. Par ailleurs, lésions surélevées, caséeuses, de 4 à 5 mm.

Foie : Dimensions normales. Une seule lésion caséeuse.

Rate : Dimensions normales : 4 cm. $\times$ 0 cm. 8. Une lésion caséeuse de 1 mm.

Reins : Le droit présente plusieurs petites lésions et deux lésions beaucoup plus importantes, en saillie, de 5 à 8 mm. de diamètre.

Le gauche a trois petites lésions de 2 mm.

Ganglions : 1 ganglion mésentérique hyalin : 2 mm. $\times$ 3 mm., région lombaire.

Lapin T₃

Mort le 8 juin après 83 jours de vie utile.

EXAMENS DE POIDS :

Poids initial	1.660 g.
Poids minimum	poids final
Poids maximum	1.890 g.
Poids final	1.100 g.
Augmentation maxima	340 g. (+ 20,4 %)
Perte de poids à partir du poids initial	560 g. (— 33,7 %)
— à partir du poids maximum ...	790 g. (— 41,7 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

A eu lieu le 8 juin 1942.

Poumons : Nombreuses lésions caséeuses, quelques-unes à contours gris. Les plus grosses sont confluentes ; dimensions : 4 mm. à 1 cm.

Foie : Dimensions normales. Une lésion caséreuse et une plaque d'aspect caséeux.

Rate : Dimensions normales : 4 cm. $\times$ 1 cm. ; assez nombreuses lésions caséuses de 1 à 2 mm.

Reins : Le droit présente deux petites lésions caséuses de 1 mm.

Le gauche est d'apparence saine.

Ganglions : 1 ganglion inguinal caséeux gauche : 5 mm. $\times$ 4 mm. ; 2 ganglions inguinaux caséeux droits : 6 $\times$ 4 mm. et 5 mm. $\times$ 4 mm. ; 2 ganglions lombaires caséeux gauches : 7 mm. $\times$ 5 mm. ; 1 ganglion rénal caséeux gauche : 3 mm. $\times$ 4 mm.

Présence d'*ascite*.

Dans l'ensemble, à part T qui est mort prématurément, ces animaux sont nettement atteints.

Tous les organes (sauf le foie chez T₁) présentent des lésions. Cependant, ces lésions ne sont pas très nombreuses, d'une façon générale ; les poumons, qui sont les plus atteints, conservent des dimensions normales ainsi que les rates. D'autre part, la survie est assez longue : en effet, si l'un d'eux meurt au bout de 49 jours, deux autres vivent 83 et 94 jours, et le quatrième doit être sacrifié au bout de 102 jours ; remarquons d'ailleurs que ce dernier présentait à cette époque des signes de chute rapide permettant de présager une mort prochaine.

B) Lapins traités.

Ces animaux, au nombre de quatre, ont été répartis en deux lots :

Le premier lot (Lapins I, I₁) est destiné à un traitement par voie intraveineuse, le deuxième (Lapins I₂, H), par voie sous-cutanée.

A cela près, le traitement est absolument identique pour les deux groupes.

10) ESSAI DE VACCINATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE.

TRAITEMENT :

Il consiste en une injection intraveineuse, tous les 4 à 5 jours, de 0 cc. 20 de dilutions à taux croissants du filtrat huileux à 2 milliards / cc. Ces dilutions contiennent 50 millions, 100 millions, 200 millions, 300 millions par centimètre cube, les injections correspondant alors respectivement à 10, 20, 40, 60 millions de bacilles. Nous avons ainsi augmenté la concentration de nos dilutions pour pouvoir toujours injecter le même volume de liquide et éviter de la sorte d'introduire dans l'économie une trop forte quantité d'huile, dont on a signalé l'effet activant sur les lésions tuberculeuses (1). Rappelons que ces injections sont faites dans une veine (de préférence la marginale) de l'oreille gauche, la droite étant réservée à la tuberculisation.

Nos animaux ont ainsi reçu, à partir du 13 décembre 1941 :

6 injections	correspondant	chacune	à 10 millions	de B.K.
4 injections	»	»	à 20 millions	de B.K.
4 injections	»	»	à 40 millions	de B.K.
4 injections	»	»	à 60 millions	de B.K.

ce qui représente un total de 540 millions de B.K.

21 jours après la dernière injection, le 17 mars 1942, a lieu la tuberculisation par 20.000 B.K. bovins souche DUPRAY, inoculés dans la veine marginale de l'oreille droite.

9 jours après, le traitement vaccinal est repris par des injections sous-cutanées d'une dilution fixe contenant 100 millions / cc., dont les doses sont augmentées progressivement selon le rythme suivant :

2 injections	de 0 cc. 10	de vaccin
2	»	0 cc. 20
2	»	0 cc. 30
2	»	0 cc. 40

n injections de 0 cc. 50 de vaccin (jusqu'à la mort de l'animal).

(1) L. NÈGRE : Action de l'huile d'olive et de l'huile de foie de morue sur la tuberculose expérimentale du cobaye et du lapin. (*C. R. Soc. Biol.* t. 1 t. 109, 1932, p. 1.107.)

TABLEAU DES PESÉES :

Dates	I	I ₁
4 décembre 1941 (avant traitement)	1 k. 750	2 k. 120
24 décembre	1 k. 740	1 k. 870
5 janvier 1942	1 k. 960	1 k. 860
16 janvier	1 k. 930	1 k. 890
26 janvier	2 k. 120	2 k. 190
9 février	1 k. 860	1 k. 750
20 février	1 k. 990	1 k. 760
2 mars	1 k. 870	1 k. 670
17 mars	1 k. 940	1 k. 590

Tuberculisation le 17 mars 1942

26 mars	1 k. 990	1 k. 620
13 avril	2 k. 150	1 k. 620
24 avril	2 k. 220	2 k. 170
7 mai	2 k. 350	2 k. 210
23 mai	2 k. 150	1 k. 980
1 juin	2 k. 180	2 k. 070
10 juin	1 k. 930	1 k. 730
16 juin		1 k. 320
20 juin	1 k. 720	poids final (mort)
26 juin	1 k. 360	
	poids final (mort)	

Lapin I

Cet animal a reçu à partir du 13 décembre 1941 une quantité totale de filtrat correspondant à 540 millions de B.K., en 18 injections. Après tuberculisation, le traitement sous-cutané a consisté en 22 injections, selon le rythme exposé plus haut, représentant un total de 9 cc. de vaccin huileux, soit le filtrat de 900 millions de B.K.

D'autre part, le 23 juin, il a reçu deux injections intradermiques, l'une de 0 cc. 20 de vaccin, l'autre de 0 cc. 20 d'huile lanoline pure, jouant le rôle de témoin ; nous reviendrons plus loin sur le résultat de ces injections.

L'animal est mort 3 jours après, le 26 juin, après 101 jours de survie à l'injection d'épreuve, et 195 jours de traitement total.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.750 g.
Augmentation maxima avant tuberculisation ..	350 g. (+ 21,1 %)
Poids à la tuberculisation.....	1.940 g.
Perte de poids après tuberculisation (1)	nulle
Augmentation maxima après tuberculisation ...	360 g. (+ 17,44 %)
Perte finale rapportée au poids à la tuberculisation	580 g. (— 29,8 %)
Perte finale rapportée au poids maximum après tuberculisation	990 g. (— 42,1 %)
Poids final	1.360 g.

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

L'autopsie a eu lieu le 26 juin 1942.

Poumons : Hémorragiques, un peu hypertrophiés. Nombreuses lésions caséeuses, de tailles variables. Certaines assez volumineuses, d'autres très petites. Elles sont assez délimitées sur le lobe gauche, tandis qu'elles présentent une tendance à la confluence sur le droit.

Le poumon gauche présente une lésion d'environ 5 mm., les autres varient de 1 à 2 mm. jusqu'à des points à peine perceptibles.

Sur le poumon droit, les lésions sont dans l'ensemble plus volumineuses, de 3 à 4 mm. en moyenne.

Foie : Dimensions normales. Une petite lésion.

Un lobe présente sur toute sa surface une couleur nettement plus claire, jaune orangé, la surface en est granuleuse, d'aspect chagriné.

Rate : Normale, 1 cm. × 5 cm.

Reins : Semés de picots imperceptibles moyennement abon-

(1) La perte de poids après tuberculisation est la chute observée (quand elle a lieu) entre la pesée à la tuberculisation et la première pesée qui la suit (10 jours après).

dants ; quelques rares lésions un peu plus volumineuses, atteignent 1 mm. ; il y en a trois sur le rein droit, une sur le gauche.

Ganglions : Un ganglion mésentérique hyalin.

Lapin I₁

A reçu le même traitement que le précédent. Mais après la tuberculisation, il a reçu en tout 7 cc. 50 de vaccin en 19 injections, car la survie a été plus courte que pour le précédent.

Mort le 16 juin 1942 après 185 jours de vie utile et 91 jours de survie après tuberculisation.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.120 g.
Poids à la tuberculisation	1.590 g.
Poids final	1.320 g.
Augmentation maxima avant tuberculisation ..	330 g. (+ 17,7 %)
Perte de poids après tuberculisation	nulle
Augmentation maxima après tuberculisation ...	620 g. (+ 38,9 %)
Perte finale rapportée au poids à la tuberculisation	270 g. (— 16,9 %)
Perte finale rapportée au poids maximum après la tuberculisation	890 g. (— 40,2 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

A été effectuée le 16 juin 1942.

Poumons : Fortement hypertrophiés ; lésions rappelant la tuberculose miliaire : innombrables lésions dont certaines assez volumineuses, mais la plupart toutes petites, donnant un aspect granuleux à toute la surface du poumon. Les lésions les plus volumineuses s'observent surtout sur le poumon droit, et elles ont tendance à être confluentes.

Foie : 2 ou 3 lésions douteuses.

Rate : Hypertrophiée : 1 cm. × 7 cm. 5.

3 lésions sur la face supérieure ; 5 lésions, fortement en saillie, sur la face inférieure.

Reins : Le rein gauche présente 2 lésions fortement en saillie.
Le rein droit paraît sain.

Ganglions : Un ganglion mésentérique hyalin, gauche.
Un ganglion rénal caséeux, gauche.

2^o) ESSAI DE VACCINATION PAR VOIE SOUS-CUTANÉE.

TRAITEMENT :

C'est exactement le même que précédemment, au mode d'injection près ; les deux groupes d'animaux sont traités en même temps, avec les mêmes dilutions.

Notons cependant qu'à partir du 16 juin les doses de vaccin, qui pour le premier groupe étaient maintenues à 0 cc. 50 par injection, sont ici augmentées de la manière suivante :

0 cc. 70 le 16 juin,
0 cc. 90 le 20 juin,
1 cc. le 25 juin et jours suivants jusqu'à la mort de l'animal.

Les injections vaccinales se font ici toujours par voie sous-cutanée, aussi bien avant qu'après tuberculisation.

TABLEAU DES PESÉES :

<u>Dates</u>	<u>I₂</u>	<u>H</u>
4 décembre 1941 (poids initial)	1 k. 880	2 k. 000
24 décembre	1 k. 770	1 k. 850
5 janvier 1942	1 k. 920	2 k. 020
16 janvier	2 k. 035	2 k. 030
26 janvier	2 k. 240	2 k. 130
9 février	2 k. 000	2 k. 050
20 février.....	2 k. 080	2 k. 260
2 mars	1 k. 980	2 k. 030
17 mars	2 k. 090	2 k. 150

Tuberculisation le 17 mars 1942

Dates	I ₂	H
26 mars.....	2 k. 120	2 k. 080
13 avril.....	2 k. 230	2 k. 150
24 avril.....	2 k. 320	2 k. 270
7 mai.....	2 k. 210	2 k. 330
23 mai.....	2 k. 000	2 k. 190
1 juin.....	2 k. 030	2 k. 250
10 juin.....	1 k. 560	2 k. 080
17 juin.....	1 k. 350	
20 juin.....	poids final (mort)	1 k. 910
29 juin.....		1 k. 880
11 juillet.....		1 k. 730
20 juillet.....		1 k. 800
30 juillet.....		1 k. 750
8 août.....		1 k. 630
19 août.....		1 k. 160
		poids final (mort)

Lapin I₂

Comme les précédents, cet animal a reçu le filtrat de 540 millions de B.K. avant tuberculisation. Il subit ensuite 20 injections, soit un total de 8 cc. 20 de vaccin huileux ; le traitement a été interrompu par la mort de l'animal après l'injection de 0 cc. 70. Il est mort le 17 juin 1942 après 186 jours de vie utile, 92 jours après la tuberculisation.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial.....	1.880 g.
Poids à la tuberculisation.....	2.090 g.
Poids final.....	1.350 g.
Augmentation maxima avant tuberculisation ..	470 g. (+ 26,5 %)
Perte de poids après tuberculisation	nulle
Augmentation maxima après tuberculisation ..	230 g. (+ 11 %)
Perte finale rapportée au poids à la tuberculisation	740 g. (— 35,4 %)
Perte finale rapportée au poids maximum après tuberculisation	970 g. (— 41,8 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : Légèrement hypertrophiés. Très nombreuses lésions grisâtres, peu caséuses, confluentes. Un grand nombre sont petites, grisâtres, de 1 à 2 mm. ; et présentent au centre un faible point caséeux.

Rate : Paraît normale au premier abord, mais en fait présente d'imperceptibles lésions grisâtres.

Foie : Légèrement piqueté de lésions qui sont certainement tuberculeuses.

Reins : En apparence peu touchés, mais quelques lésions en formation.

Lapin H

Le traitement est toujours le même, mais ici la quantité totale de vaccin huileux injectée après tuberculisation (22 cc. en 34 injections), est beaucoup plus élevée, l'animal ayant eu une survie plus longue que les précédents. La dose de 1 cc. a été administrée plusieurs fois (13 injections).

Signalons que ce lapin a reçu le 2 juillet deux *injections intradermiques* respectivement de 0 cc. 20 et 0 cc. 40, d'une émulsion d'un bacille vivant, non acido-résistant, isolé d'une souche de B.C.G. par Madame HOLLANDE. La température prise à cette occasion s'est révélée assez élevée : 39°9 le matin, 39°2 le soir, et s'est maintenue à peu près au même niveau pendant les jours qui suivirent les injections, avec cependant une tendance à décroître (38°9 le 4^e jour).

La réaction a été positive, surtout au point d'inoculation de la dose la plus élevée où l'on a observé en plus de la rougeur, un point nécrotique. Ces phénomènes qui ont eu lieu dans les quatre jours suivant les injections, traduisent un certain état allergique chez l'animal vis-à-vis du microbe injecté.

Nous avons repris la température le 30 juillet : elle était de 39°2.

L'animal est mort le 19 août 1942 après 248 jours de vie utile et 154 jours de survie après tuberculisation.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.000 g.
Poids à la tuberculisation	2.150 g.
Poids final	1.160 g.
Augmentation maxima avant tuberculisation ..	410 g. (+ 22,1 %)
Perte de poids après tuberculisation	70 g.
Augmentation maxima après tuberculisation ...	250 g. (+ 12 %)
Perte finale rapportée au poids à la tuberculisation	990 g. (— 46 %)
Perte finale rapportée au poids maximum après tuberculisation	1.170 g. (— 50,2 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Effectuée le 19 août 1942.

On constate d'abord en ouvrant l'animal, la présence d'une notable quantité d'huile dans le tissu sous-cutané des cuisses, face interne, aux points d'injections, et notamment à la cuisse droite qui, par suite d'erreurs, a reçu un plus grand nombre d'injections. Il y a donc eu accumulation, au point d'injection, de vaccin non résorbé, par suite sans doute d'un traitement trop intensif.

Poumons : Légèrement hypertrophiés. Ils présentent de très nombreuses lésions, de dimensions souvent considérables, mais nettement délimitées. Le poumon droit paraît le plus atteint. Il présente notamment une volumineuse lésion à sa base, mesurant environ 1 cm. 5 × 1 cm., caséeuse, dure et assez saillante ; les autres lésions, de dimensions variables (certaines assez importantes), sont rapprochées, mais non confluentes.

Sur le poumon gauche, les lésions, de taille plus réduite dans l'ensemble (1 à 2 mm.), à part une ou deux assez importantes vers la base, sont disposées par petits groupes. Ces lésions sont blanches, dures et présentent une tendance à la localisation.

Foie : Paraît sain.

Rate : D'apparence saine ; présente une teinte noirâtre sur les 2/3 de sa face inférieure dans la portion la plus large. Un liseré noir borde la face supérieure.

Légère tendance à l'hypertrophie 5 cm. 5 × 0 cm. 8.

Reins : Les deux reins présentent de nombreuses lésions, les unes assez volumineuses (2 à 4 mm.), fortement en saillie, d'autres plus petites, sous forme de tache grise ayant au centre un picot blanc en saillie, d'autres enfin à peine visibles, en formation.

Ganglions : Un ganglion lombaire hyalin 1 mm. $\times$ 2 mm.

Conclusions :

L'examen des résultats obtenus nous montre que la **survie** des animaux traités excède dans l'ensemble celle des témoins.

Parmi ces derniers, l'un d'eux est mort prématurément 49 jours après la tuberculisation, deux autres ont survécu en moyenne 3 mois, et le 4^e a été sacrifié quelques jours plus tard, mais son état et sa courbe de poids permettaient de prévoir une fin prochaine.

Parmi les traités, deux ont survécu 3 mois, un autre a duré 10 jours de plus et le 4^e a eu une survie beaucoup plus longue, qui a dépassé 5 mois.

La comparaison des pesées est aussi favorable aux animaux traités.

En effet, pour ces derniers, on n'a pas observé la chute qui suit en général la tuberculisation. Au contraire, la plupart ont présenté une *augmentation de poids*, qui s'est accentuée régulièrement pendant environ un mois et demi. Pour le lapin H seulement nous avons noté une chute, d'ailleurs légère (70 g.), dix jours après la tuberculisation (à la pesée suivante le poids était à nouveau celui de la tuberculisation, et il a continué d'augmenter régulièrement par la suite).

Pour les autres lapins I, I₁, I₂ les augmentations après tuberculisation ont été respectivement de 30, 30, 50 g.

Les témoins au contraire ont présenté une chute nette chez deux d'entre eux. Nous n'avons pu malheureusement avoir les résultats de la première pesée, mais pour la seconde, cette baisse était encore de 90, 110 g. pour T et T₁ ; pour T₂ et T₃, nous avons noté une hausse légère de 30 g. pour T₂ et de 120 g. pour T₃, alors qu'à la même date, H avait le même poids

qu'à la tuberculisation et I, I₁, I₂, présentaient respectivement une augmentation de 140, 30 et 210 g.

Le lapin T n'a jamais eu d'ailleurs de *relevée* ; T₁ a présenté à la 3^e pesée un palier (20 g. d'augmentation) immédiatement suivi d'une chute régulière, les poids ayant toujours été inférieurs au poids initial. Seul les deux suivants ont eu une augmentation régulière jusqu'au 13 mai.

Les **augmentations maxima** enregistrées rapportées à 100 g. ont été de 16,6 % et 20,4 % alors que pour les traités elles sont de 17,4 %, 38,9 %, 11 % et 12 %, donc dans l'ensemble plus élevées, surtout pour les lapins ayant subi le traitement intraveineux (17,4 et 38,9 %).

Quant à la **perte finale** de poids, elle est du même ordre pour les témoins et les traités et semble d'autant plus forte que l'animal a survécu plus longtemps.

Comparons en effet les pourcentages de chute rapportés au poids maximum, nous trouvons un chiffre élevé pour H (— 50,2 %) plus faible pour les autres lapins traités (— 42,1 %, — 40,2 %, — 41,8 %) ainsi que pour trois témoins (— 40,10 %, — 30,1 %, — 41,7 %) ces six animaux étant morts à peu près à la même époque. Enfin pour le lapin T mort prématurément, le pourcentage n'est que de — 27,7 %.

Si la perte finale ne nous permet pas d'établir des différences entre traités et témoins, par contre la *comparaison des poids*, faite à l'occasion d'une pesée antérieure, nous permet de constater une résistance beaucoup plus nette chez les traités : Prenons par exemple la pesée du 1^{er} juin ; faisons la somme des poids des lapins traités : on constate qu'elle excède de 760 g. la somme des poids (7 kg 770) relevés à la tuberculisation, d'où gain de 98 g. par kilogramme de lapin, en moyenne. Pour les trois témoins existant encore au 1^{er} juin, ce total (5 kg 100) est au contraire inférieur de 785 g. à sa valeur prise à la tuberculisation, d'où perte de 154 g. par kilogramme de lapin en moyenne.

La différence entre les deux groupes est donc de $98 + 154 = 252$ g. par kilogramme, soit 25,2 %. Le gain sur le poids initial

des animaux traités dépasse donc en moyenne de 25 % la même différence chez les témoins.

La comparaison des poids est donc dans l'ensemble favorable aux lapins vaccinés. Signalons que pour ces derniers, le tableau des pesées, avant tuberculisation, pendant la préparation des animaux, nous montre des oscillations assez irrégulières, mais parallèles. Dans l'ensemble on note un maximum de poids fin janvier, sauf pour H (maximum en février) suivi d'une chute brusque en février. Cette chute serait peut-être due à une baisse de température, et paraît indépendante du traitement. Les poids augmentent ensuite régulièrement, cette relevée ne paraissant pas troublée par la tuberculisation.

Ces résultats seront d'ailleurs illustrés plus loin par les courbes de pourcentage de poids (fig. 129).

A l'autopsie nous constatons pour tous nos animaux que les organes sont nettement envahis.

Les poumons sont hypertrophiés à des degrés variables ; le côté droit est d'une façon générale plus touché que le gauche. Les lésions paraissent dans l'ensemble plus abondantes chez les animaux vaccinés que chez les témoins, mais elles sont moins confluentes, surtout chez le lapin H (traitement sous-cutané), pour lequel on peut observer une tendance nette à la délimitation.

II. — RÉSULTATS SÉROLOGIQUES.

RECHERCHE DES AGGLUTININES

Nous avons pratiqué la séro-agglutination le plus régulièrement possible, tous les 20 à 30 jours ; mais nous nous sommes heurtée à de grandes difficultés au cours des prises de sang, soit que certains animaux n'en aient pas donné du tout, soit que la quantité obtenue, très faible, n'ait pu nous permettre que la préparation de quelques dilutions seulement. Les résultats que nous présentons sont donc souvent incomplets.

A) **Lapins témoins** (Voir courbe p. 128).

Rappelons que la tuberculisation (20.000 B.K. bovins souche DUPRAY) a lieu le 17 mars 1942.

Lapin T

Agglutination du 20 avril, 34 jours après la tuberculisation :

1/5	+	+	+	+	+
1/10	+	+	+	+	+
1/15	+	+	+	+	—
1/20	+	+	—	—	—

Lapin T₁

Temps écoulé de la tuberculisation à la réaction

<i>Dilutions</i>	<i>34 jours</i>	<i>63 jours</i>	<i>93 jours</i>							
1/5		+	+	+	+					
1/10	pas de sang	+	+	+	+	+	+	—	—	
1/15		+	+	+	+	—	+	+	—	—
1/20		+	+	—	—	—	+	—	—	—
1/30		—	—	—	—	—	—	—	—	—

Lapin T₂

Temps écoulé de la tuberculisation à la réaction

<i>Dilutions</i>	<i>34 jours</i>	<i>63 jours</i>
1/5	+ + + + +	+ + + + +
1/10	+ + + + +	+ + + + +
1/15	+ + + + —	+ + + + +
1/20		+ + + + + (?)
1/30		+ + + + —

Lapin T₃

Temps écoulé de la tuberculisation à la réaction

<i>Dilutions</i>	34 jours	63 jours
1/5	+	+
1/10	+	+
1/15	+	+
1/20	+	—
1/30	+	—
1/40	+	—
1/50		

B) **Lapins traités** (Voir courbe p. 129).

Vaccination par voie intraveineuse

Lapin I

<i>Avant tuberculisation</i>		<i>Durée de traitement</i>		<i>Après tuberculisation</i>	
72 jours de traitement		63 jours		104 jours (mort)	
A reçu le filtrat de		Volume de vaccin reçu :			
<i>Dilutions</i>	540 millions de B.K.	4 cc. 50		9 cc.	
1/5		+++++		+++++	
1/10	+++++	+++++		+++++	
1/15	+++++			+++++	
1/20	+++--			+++--	
1/30				+----	

Il a été très difficile d'obtenir du sang de ce lapin, c'est pourquoi les quelques réactions que nous avons pu faire n'ont porté que sur un nombre restreint de dilutions et ont dû être effectuées à la goutte.

Lapin I₁

	<i>Avant traitement</i>	<i>Avant tuberculisation</i>		<i>Après tuberculisation</i>		
		<i>Durée de traitement</i>				
		11 jours	72 jours	30 jours	63 jours	91 jours
		a reçu le filtrat de :		quantité de vaccin reçue :		
		30 mill. B.K.	540 mill. B.K.	0 cc. 90	4 cc. 50	7 cc. 50
1/5	+++++			+++++		
1/10	+++--	+++--	+++++	+++++	+++++	+++++
1/15	+++--	+++--	+++++	+++++	+++++	+++++
1/20	+++--	+++--	+++++	+++++	+++++	+++++
1/30	+++--	+++--	+++++	+++++	+++++	+++++
1/40		+++--			+++--	
1/50		+++--			+++--	
1/60		+++--				
1/70		+++--				

Toutes ces agglutinations ont été faites à la pipette.

Lapin I₂

Dilutions	Avant traitement	Avant tuberculisation		Après tuberculisation			
		Durée traitement		quantité de vaccin reçue :			
		72 jours a reçu le filtrat de 540 millions B.K.	30 jours	63 jours	91 jours	128 jours	155 jours
1/5			0 cc. 90	4 cc. 50	8 cc. 20	22 cc.	
1/10	+ — — — —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	
1/15		+ + + + —	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	
1/20		+ + + — —	+ + + — —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	
1/30		+ — — — —	+ + — — —	+ + + + —	+ + + + —	+ + + + —	
1/40			+ — — — —	+ + + + —	+ + + + —	+ + + + —	
1/50			+ — — — —	+ + + — —	+ + + — —	+ + + — —	
1/60				+ + + — —	+ + + — —	+ + + — —	
1/70				+ + — — —	+ + — — —	+ + — — —	

La première agglutination a été faite à la goutte, la quantité de sérum dont nous disposions étant infime.

La seconde agglutination a été aussi faite à la goutte.

Pour la dernière, le sang a été prélevé dans le cœur après avoir asphyxié l'animal à l'aide de chloroforme ; il était d'ailleurs mourant lorsqu'on l'a sacrifié.

Lapin H

Dilutions	Avant traitement	Avant tuberculisation		Après tuberculisation			
		Durée de trait.		Quantité de vaccin reçue :			
		72 jours A reçu le filtrat de 540 mill. B.K.	30 jours	63 jours	93 jours	155 jours	182 jours
1/5			0 cc. 90	4 cc. 50	8 cc. 20	22 cc.	
1/10	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	
1/15	+ + + — —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + — — —	+ + + + +	
1/20		+ + + + +	+ + + + —	+ + + + +		+ + + + +	
1/30		+ + + + —		+ + + + —			
1/40				+ + + — —			
1/50				+ + + — —			

Ces agglutinations, à part la 4ème, ont été faites à la pipette.

Pour la 5ème, la dilution du 1/10, notée + + — — —, a été difficile à lire, car les bacilles, agglutinés, n'étaient pas déposés; l'agglutination toutefois était légère.

La dernière agglutination, faite avec le sang prélevé dans le cœur de l'animal mort, n'a pu être effectuée, pour des raisons indépendantes de notre volonté, que 10 jours après le prélèvement, le sérum ayant été recueilli aussitôt après la coagulation, centrifugé et conservé à la glacière. Nous avons constaté au moment d'effectuer la réaction, que ce sérum était entièrement gélifié; par trituration de ce caillot à l'anse de platine nous avons réussi à obtenir une petite quantité de sérum liquide mais il est resté en dépit de nos efforts, une masse solide, transparente, irréductible.

L'étude de ces agglutinations nous montre qu'avant la tuberculisation, le traitement par le vaccin huileux provoque une légère poussée d'agglutinines, aussi bien par traitement sous-cutané qu'intraveineux.

C'est ainsi que l'agglutination, qui est totale au 1/5 pour un lapin seulement (I₁) avant traitement, atteint, après 72 jours, le 1/10 pour tous nos lapins et même le 1/15 pour I₁ (traitement intraveineux) et pour H (traitement sous-cutané). Des agglutinations partielles sont observées dans un nombre assez élevé de dilutions atteignant le 1/60 pour I₁; on aurait sans doute observé un fait analogue chez H si l'on avait pu pousser la réaction assez loin.

Après la tuberculisation, nous assistons à une poussée nette d'agglutinines.

Pour I₁ en particulier, un mois après la tuberculisation, le taux d'agglutination totale atteint au moins le 1/30 (la réaction n'a pu être poussée au-delà). Un mois après le taux retombe au 1/15 mais l'agglutination est encore sensible au 1/50. Au moment de la mort, à la fin du 3ème mois, l'agglutination n'est même plus totale au 1/5.

Les autres lapins traités suivent le même cycle. Dans le cas du traitement par voie sous-cutanée, l'agglutination totale monte respectivement au 1/20 et au 1/15, mais la réaction

est encore sensible à des taux beaucoup plus élevés dépassant le 1/70.

Remarquons que chez le lapin H, appartenant à ce dernier groupe, l'agglutination faite au moment de la mort présente une remontée nette sur la réaction effectuée deux mois auparavant, correspondant sans doute au traitement intensif par le vaccin huileux appliqué spécialement à ce sujet, dont la survie a été particulièrement longue.

Chez les témoins, les taux d'agglutination évoluent de façon parallèle ; c'est encore deux mois après la tuberculisation que l'on relève les taux les plus élevés, mais il semble que dans l'ensemble la réaction n'est pas aussi poussée que chez les animaux traités.

III. — RÉACTIONS ALLERGIQUES.

Nous avons effectué sur quelques lapins tuberculeux des injections intradermiques de notre vaccin huileux complet pour voir les réactions allergiques qu'il est susceptible de provoquer. Chaque injection a été accompagnée d'une injection témoin d'huile-lanoline pure, en quantité égale.

Lapin T₁

Il a reçu le 18 juin 1942, sur le flanc droit, une injection intradermique de 0 cc. 20 de *vaccin huileux complet* et, à côté, une injection semblable de 0 cc. 20 d'*huile lanoline pure*. Sa température était alors de 38°6.

Nous avons suivi la réaction en notant sa température et l'aspect du point d'inoculation.

Notons que l'animal venait de subir (le 9 juin) une autre épreuve semblable, sur le même flanc, avec le *vaccin acétone huileux*, épreuve qui a été renouvelée sur l'autre flanc, le 13 juin.

Nous avons observé, 24 heures après les injections, une rougeur avec centre noirâtre (nécrose) au point d'inoculation de l'huile-lanoline ; la peau est rugueuse au toucher, et la rougeur s'étend uniformément au niveau de la 2^e piqûre (huile-vaccin) Température : 37°6.

Cet essai effectué par erreur sur T₁ est renouvelé sur un lapin traité (I) auquel il était en réalité destiné.

Lapin I

Rappelons que ce lapin a été traité préventivement par des injections intraveineuses de filtrat huileux, à taux croissants, puis, après tuberculisation, par des injections sous-cutanées de vaccin (filtrat correspondant à 100 millions B.K. / cc.). L'intradermo-réaction a été faite le 23 juin à 17 heures.

L'animal dont la température était de 38°6 a reçu les deux injections suivantes :

0 cc. 20 d'*huile-lanoline vierge*,

0 cc. 20 d'*huile-lanoline vaccin* (100 millions B.K. / cc.).

24 heures après, le 24 juin, la température était de 39°4 et le point d'inoculation du vaccin présentait une légère rougeur, alors que le témoin avait un aspect parfaitement normal.

Le 25 juin à 11 h. 30 la température est tombée à 35°3 ; le même jour, à 17 heures, 48 heures après l'injection, l'aspect est celui de la veille et la température est de 37°2.

Le 26 juin, toute rougeur a disparu. L'animal meurt d'ailleurs dans la journée.

En résumé ces épreuves ne sont pas très nettes ; la première est sujette à caution, car elle a été effectuée sur un animal qui venait de subir successivement deux séries d'injections intradermiques.

La seconde a été effectuée de façon trop tardive, l'animal étant mort deux jours après, cela peut expliquer la faiblesse de la réaction obtenue, l'allergie disparaissant aux approches de la mort. Peut-être cette injection a-t-elle aussi eu quelque influence sur la fin rapide de l'animal.

IV. — ÉTUDE DES FORMULES LEUCOCYTAIRES.

Ces formules ont pu être établies grâce aux étalements effectués au moment des prises de sang. Mais par suite des difficultés que nous avons rencontrées, certaines formules n'ont pu être effectuées, soit qu'il ait été impossible de recueillir du sang, soit que celui-ci, fourni en très petite quantité, ait été réservé pour les agglutinations.

Nous avons établi au préalable une première formule sur les animaux neufs, avant tout traitement ; en faisant la moyenne des résultats obtenus, nous établissons une formule que nous considérerons comme normale, et qui nous servira de base pour tous les animaux chez lesquels la formule initiale n'a pu être établie. Nous reconnaissons d'ailleurs que ce procédé manque de précision car nous avons trouvé des écarts considérables dans les formules initiales de nos animaux, lesquelles peuvent être par conséquent très différentes de la moyenne admise.

Quoiqu'il en soit, la formule adoptée est la suivante :

$$\begin{aligned} P &= \text{Polynucélaïres} \dots\dots\dots 32 \\ L &= \text{Lymphocytes} \dots\dots\dots 57 \\ M &= \text{Monocytes} \dots\dots\dots 11 \\ R &= \text{Rapport } \frac{\text{Lymphocytes}}{\text{Monocytes}} \dots\dots\dots 5,2 \end{aligned}$$

A) Lapins témoins.

Nous n'avons pu obtenir quelques résultats que de T et T₁. Rappelons que la tuberculisation a eu lieu le 17 mars.

	T	T ₁	
	18 avril	18 avril	19 mai
P	33	50	39
L	61	28	48
M	6	22	13
R	10,1	1,3	3,6

B) Lapins traités.

		13/12	23/12	24/1	26/2	TUBERCULISATION	18/4	19/5	8/6	26/6	19/8
I (Courbe p. 132)	P	32	29	33	21		31	27	45	32	
	L	44	58	48	64		54	38	31	28	
	M	24	13	19	15		15	15	24	40	
	R	1,8	4,4	2,5	4,2		3,6	3,8	1,2	0,7	
I ₁	P		36		28		34	47			
	L		59		60		57	34			
	M		5		12		9	19			
	R		10,2		5		6,3	1,7			
I ₂ (Courbe p. 132)	P	38	53	31	36		27	39			
	L	54	42	58	50		60	36			
	M	8	5	11	8		13	25			
	R	6,7	8,4	5,2	7		4,6	1,4			
H	P	18	38		24		25	29	27		24
	L	72	53		60		66	65	59		73
	M	10	9		16		9	6	14		3
	R	7,2	5,9		3,7		7,3	10,8	4,2		24,3

De la comparaison de ces résultats nous pouvons tirer les *conclusions* suivantes :

Le **taux des polynucléaires** oscille légèrement autour de la valeur moyenne, toutefois, quand la maladie évolue vers une issue fatale, ce taux augmente régulièrement : c'est le cas des trois premiers lapins I, I₁, I₂.

On peut faire une remarque analogue à propos des **monocytes** dont le taux diminue d'abord au cours des 20 premiers jours de traitement, puis reprend une valeur moyenne autour de laquelle il oscille. Aux approches de la mort, il augmente brusquement, ainsi qu'on peut le constater en comparant pour chaque animal les deux dernières formules effectuées. C'est ainsi que pour I le taux passe de 24 à 40 en 8 jours, pour I₁ de 9 à 19, et pour I₂ de 13 à 25 en un mois.

Quant aux **lymphocytes**, leurs variations ne sont pas aussi considérables et consistent plutôt en oscillations autour d'une valeur moyenne à peu près constante pour tous les animaux, ainsi qu'on peut le voir dès le premier mois de traitement, cette valeur étant obtenue après augmentation de la valeur initiale chez certains (I) ou, au contraire, par diminution de cette valeur (I_2 , H).

Mais quand l'état des animaux s'aggrave, la valeur de ce taux baisse brusquement et devient nettement inférieure à la moyenne ; cette chute accompagne l'augmentation des polynucléaires et des monocytes, ce qui explique la chute brusque du rapport $\frac{L}{M}$ pendant cette même période. La valeur finale de ce rapport, qui se trouve parfois inversée (I) est nettement inférieure à la valeur initiale et aux suivantes qui, en général, sont en augmentation sur la première.

En somme, si au cours du traitement cette évolution est assez confuse et si la tuberculisation à son début ne paraît pas avoir d'action marquée, nous retrouvons cependant dans la période d'aggravation de la maladie, les conclusions déjà établies : augmentation simultanée des polynucléaires et des monocytes, au détriment des lymphocytes et par suite chute du rapport $\frac{L}{M}$ qui devient très faible, nettement inférieur au rapport initial, parfois même inversé.

Toutefois signalons le comportement tout spécial du lapin H qui sur d'autres points et notamment par sa courbe de poids et sa longue survie, se détache de ses semblables. Cet animal qui, à l'origine, avait d'ailleurs une faible proportion de polynucléaires, contrebalancée par un taux anormalement élevé de lymphocytes, semble présenter au début les mêmes variations que les précédents aussi bien avant qu'après tuberculisation ; mais au moment de la mort des trois autres lapins, vers le 18 juin, on constate chez lui une diminution des polynucléaires. Son état semble se stabiliser et la mort ne survient qu'environ deux mois plus tard ; nous constatons à ce moment la valeur très faible du taux des polynucléaires, l'augmentation des

lymphocytes qui ont retrouvé pour la première fois leur taux initial, et la chute des monocytes dont le taux est le plus faible enregistré, Le rapport $\frac{L}{M}$ est deux fois plus fort que le rapport le plus élevé obtenu en cours du traitement.

DEUXIÈME SÉRIE

ESSAI DE TRAITEMENT CURATIF

Rappelons qu'il s'agit ici d'un traitement spécial dénommé « curatif » pour des raisons de commodité et parce qu'il est en effet précédé d'une injection de bacilles vivants, mais nous avons employé ici le B.K. homogène, avirulent, et non les B.K. bovins virulents qui sont nécessaires pour toute tuberculisation proprement dite.

Cette expérimentation a pour but de vérifier si le mélange huileux, contenant des produits d'extraction (lipides) du bacille est capable de redonner une certaine virulence au B.K. avirulent vivant, disséminé dans l'organisme par voie veineuse. Dans cet ordre d'idée, un travail analogue a été effectué par Mlle GUERRE (*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1941*), mais le produit essayé était le vaccin acétone aqueux, qui s'est révélé sans action. Par notre procédé nous avons voulu joindre à l'action de certains lipides bacillaires, celle des corps gras dont l'action aggravante chez des animaux tuberculeux a déjà été mise en évidence (1).

Au cours de cette expérimentation nous suivrons les réactions de l'animal selon les méthodes habituelles, par ses variations de poids, les séro-agglutinations, les formules leuco-

(1) L. JULLIEN : Note sur les injections d'huile cholestérinée dans la tuberculose expérimentale du cobaye. (*Soc. Biol. Lyon*, 16 novembre 1925.)

cytaïres. A l'autopsie nous examinerons avec soin les poumons ; cet organe fixant tout spécialement les corps gras (VERNE), c'est là que doit se manifester électivement l'action nocive des B.K., avec la technique employée (inoculation par voie intraveineuse), ainsi que certains travaux permettent de le présumer (1).

TRAITEMENT. — Nos animaux, au nombre de quatre, reçoivent donc par voie intraveineuse 400.000 B.K. homogènes avirulents vivants, en émulsion dans un demi-centimètre cube de sérum physiologique stérile.

Le traitement vaccinal, entrepris immédiatement (le même jour) est effectué exactement selon le même rythme que pour les séries précédentes :

6 injections à 10 millions et ensuite 4 injections à 20, 40 et 60 millions successivement, deux injections successives étant espacées de 4 à 5 jours. De même que précédemment, on utilise des dilutions plus ou moins concentrées de façon à employer toujours le même volume d'excipient huileux, soit 0 cc. 20.

Deux lapins sont traités par voie intraveineuse, les deux autres par voie sous-cutanée.

Le traitement terminé, les animaux qui ont survécu sont sacrifiés.

I. — OBSERVATIONS

RELATIVES AUX ANIMAUX TRAITÉS.

1^o) *Traitement par voie intraveineuse.*

Deux lapins, C, V, subissent le 13 décembre 1941 l'injection d'épreuve par voie intraveineuse, et en même temps la première injection de vaccin ; le traitement est poursuivi selon le rythme

(1) E.-A. BOSSAN : Procédé pour rendre un lapin exclusivement tuberculeux pulmonaire. (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 10 janvier 1920, p. 7.)

indiqué et les animaux sont sacrifiés le 12 mars 1942 après 86 jours de traitement ; ils ont reçu par voie veineuse une quantité totale de filtrat correspondant à 540 millions de B.K.

La dernière injection de vaccin ayant eu lieu le 24 février, l'autopsie a été pratiquée 16 jours après la fin du traitement, les animaux ayant été laissés en repos pendant ce laps de temps.

TABLEAU DES PESÉES : (Voir courbe p. 130)

<u>Dates</u>	<u>C</u>	<u>V</u>
	(poids initial)	
4 décembre 1941 ...	1 k. 820	1 k. 680
13 décembre : Tuberculisation (B.K. homogène) et début du traitement		
24 décembre	1 k. 740	1 k. 590
5 janvier 1942	1 k. 850	1 k. 490
16 janvier	1 k. 885	1 k. 600
26 janvier	2 k. 120	1 k. 880
9 février	1 k. 880	1 k. 560
20 février	2 k. 020	1 k. 810
2 mars	1 k. 880	1 k. 560.
12 mars	1 k. 860	1 k. 640
	poids final (sacrifié)	poids final (sacrifié)

Lapin C

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.820 g.
Poids maximum	2.120 g.
Poids final	1.860 g.
Augmentation maxima	380 g. (+ 21,8 %)
Perte finale (rapportée au poids maximum)	260 g. (— 12,2 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Effectuée le 12 mars ; tous les organes, dont les *poumons*, sont absolument sains.

Dimensions de la rate : 4 cm. 5 × 0 cm. 9.

Lapin V

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.680 g.
Poids maximum	1.880 g.
Poids final	1.640 g.
Augmentation maxima	390 g. (+ 26,1 %)
Perte finale (rapportée au poids maximum) ..	240 g. (— 14,6 %)

RÉSULTAT DE L'AUTOPSIE :

Comme pour le précédent, les organes sont tous normaux et sains.

Dimensions de la rate : 4 cm. × 0 cm. 9.

2^o) *Traitement par voie sous-cutanée.*

Les deux lapins C₁ et C₂ subissent un traitement absolument parallèle au précédent, mais ils meurent avant d'avoir reçu toutes les injections qui leur étaient destinées.

TABEAU DES PESÉES : (Voir courbe p. 130)

Dates	C ₁	C ₂
	(poids initial)	
4 décembre 1941 ...	1 k 450	1 k 350
13 décembre : tuberculisation (B K homogène) et début du traitement		
24 décembre	1 k. 320	1 k. 270
5 janvier 1942	1 k. 360	1 k. 200
16 janvier	1 k. 355	1 k. 260
26 janvier	1 k. 570	1 k. 420
10 février	1 k. 060	1 k. 060
17 février	poids final (mort)	0 k. 970
		poids final (mort)

Lapin C₁

Mort le 10 février au bout de 59 jours de traitement ; la quantité totale de filtrat huileux injectée correspond à 300 millions de B.K. Le traitement a été interrompu par la mort

de l'animal après la dernière injection correspondant à 40 millions de B.K.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.450 g.
Poids maximum	1.570 g.
Poids final	1.060 g.
Augmentation maxima	250 g. (+ 18,9 %)
Perte finale (rapportée au poids maximum) ..	510 g. (— 32,4 %)

RÉSULTAT DE L'AUTOPSIE :

Les organes ne portent pas de lésions à l'exception du *foie*, où l'on relève quelques taches blanches (coccidiose ?).

Les *poumons* sont légèrement hypertrophiés.

La *rate* est petite, 0 cm. 6 × 2 cm. 5.

Pas de *ganglions* visibles.

Lapin C₂

Mort le 17 février, après 66 jours de vie utile ; la quantité de filtrat reçue correspond à 420 millions de B.K.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.350 g.
Poids maximum	1.420 g.
Poids final	970 g.
Augmentation maxima	220 g. (+ 18,3 %)
Perte finale (rapportée au poids maximum) ..	450 g. (— 31,6 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Tous les organes sont sains et normaux. Quelques rares taches blanches sur le *foie*.

Conclusions :

L'examen de ces données nous permet de constater que ce traitement, même intraveineux, *n'a pas permis au B.K. homo-gène de manifester une virulence accrue.*

L'autopsie nous montre en effet que les poumons de nos animaux sont sains, comme les autres organes d'ailleurs, exception faite du foie, sur lequel nous avons relevé quelques lésions douteuses qui doivent être vraisemblablement attribuées à une autre affection.

L'étude des pesées met en lumière quelques différences dans le comportement des deux groupes, différences en faveur du traitement intraveineux : en effet, les animaux de cette série ont dû être sacrifiés après 86 jours de vie utile, leur perte finale est alors aux environs de — 13 % ; la chute de poids est lente, coupée de tentatives de relevée (pesée du 20 février). Le poids final de V par exemple, dépasse de près de 100 g. le poids obtenu dix jours avant. Au 12 mars, les lapins se trouvent aux environs de leur poids initial.

Quant aux augmentations maxima, elles dépassent 20 et 25 % pour C et V respectivement.

Pour le traitement sous-cutané, au contraire, les animaux meurent très maigres (1 kg 060 et 0 kg 970) les 10 et 17 février ; leur augmentation maxima est de 15 % seulement et aussitôt après le 26 janvier, date où le poids maximum est relevé, nous assistons à une chute très brusque, suivie de mort dans un bref délai.

Les poids à la mort sont nettement inférieurs aux poids initiaux et le pourcentage de perte finale est de 32 % en moyenne (près du triple de celui des lapins traités par voie intraveineuse).

Toutefois, les lapins C₁ et C₂ ayant un poids initial très faible, nettement inférieur à ceux de la première série, peut-être ce fait intervient-il, en partie, pour expliquer cette différence sensible dans l'évolution des deux séries, les animaux étant trop jeunes et trop faibles pour pouvoir réagir.

II. — RÉSULTATS SÉROLOGIQUES.

RECHERCHES DES AGGLUTININES

1^o) Vaccination par voie intraveineuse.

Lapin C

Dilutions	Durée de traitement		
	42 jours	72 jours	86 jours (sacrifié)
	a reçu le filtrat de		
	140 millions B.K.	540 millions B.K.	540 millions B.K.
1/5	+++++	+++++	+++++
1/10	+++++	+++++	+++--
1/15	+++++	+++--	++---
1/20	+++++	++---	
1/30	+++--		
1/40	++---		

Toutes ces réactions, sauf la dernière, ont été faites à la goutte.

Lapin V

Dilutions	Durée de traitement			
	11 jours	42 jours	72 jours	86 jours
	a reçu le filtrat de			
	30 mill. B.K.	140 mill. B.K.	540 mill. B.K.	540 mill. B.K.
1/5		+++++	+++++	+++++
1/10	+++--	+++++	+++++(?)	+++++
1/15		++++-	++---	+++--
1/20		+++--		
1/30		++---		
1/40		++---		

De même que pour le précédent ces réactions (sauf la dernière) ont été faites à la goutte ; elles sont malgré tout incomplètes.

2°) *Vaccination par voie sous-cutanée.*

Chez ces animaux, très maigres, il nous a été impossible d'obtenir la plus petite quantité de sang, de sorte que seule l'agglutination à la mort de l'animal a pu être effectuée.

Lapin C₁

Agglutination du 10 février, sur le sang de l'animal mort après 59 jours de traitement ; il a reçu le filtrat de 300 millions de B.K.

1/5	1/10	1/15		+	+	+	+	+
1/20				+	+	+	+	—
1/30	1/40			+	+	—	—	—
1/50	1/60			+	—	—	—	—

Lapin C₂

Agglutination du 17 février, sur le sang de l'animal mort après 66 jours de traitement ; il a reçu le filtrat de 420 millions de B.K.

1/5	1/10			+	+	+	+	+
1/15				+	+	+	+	—
1/20	1/30			+	+	—	—	—
1/40	1/50	1/60	1/70	+	—	—	—	—

D'une façon générale, nous remarquons que les taux d'agglutination sont faibles, les maxima obtenus étant de l'ordre du 1/15 au 1/20. Dans la première série, la seule que nous puissions étudier (la seconde n'ayant donné de résultats qu'à l'autopsie), les variations du taux d'agglutination sont les suivantes :

11 jours après le début du traitement, l'agglutination est négative (lapin V : 1/10 + + + — —). Un mois après, nous enregistrons un maximum : agglutination totale au 1/20 pour C, au 1/10 seulement pour V ; au 1/40, elle est encore nettement sensible (+ + — — —) ; à la 3^e agglutination (72 jours de traitement), le taux baisse (réaction totale au 1/10 seulement) ; le traitement est terminé depuis 48 heures.

Quinze jours après, quand les animaux sont sacrifiés, les

taux se sont maintenus à peu près constants, nous observons cependant une légère baisse pour C, et peut-être une tendance à la relevée chez V.

Quant au traitement sous-cutané, nous nous bornerons à remarquer que les taux à la mort de l'animal (59^e et 66^e jours respectivement) sont plus élevés que chez les premiers lapins sacrifiés (86^e jour), mais sont vraisemblablement du même ordre que pour ces derniers, à la même date. En effet les résultats (agglutination totale au 1/10, au 1/15 et montant au-delà de 1/40) se classent de façon intermédiaire entre ceux des agglutinations du 42^e et 72^e jours de C et V.

Peut-être pouvons-nous présumer de cela que les résultats ont été les mêmes pour les deux séries ; la mort prématurée des deux derniers animaux, faisant suite à un état de cachexie avancé, n'a pas eu de retentissement sur le taux d'agglutination de leur sérum.

III. — ÉTUDE DES FORMULES LEUCOCYTAIRES

Les résultats obtenus au cours du traitement sont les suivants :

		13 décembre	23 décembre	24 janvier	26 février
C	P	26		42	34
	L	66		50	46
	M	8		8	20
	R	8,2		6,2	2,3
V (Courbe p. 132)	P		63	41	54
	L		28	53	41
	M		9	6	5
	R		3,1	8,8	8,2
C₁ (Courbe p. 132)	P	37	55	40	
	L	52	31	53	
	M	11	14	7	
	R	4,7	2,2	7,5	
C₂	P	37	38	48	
	L	52	47	46	
	M	11	15	6	
	R	4,7	3,1	7,6	

Nous constatons ici la poussée à peu près régulière des **polynucléaires** dont le taux évolue toujours au-delà du taux initial. Cette augmentation se fait, dans l'ensemble, aux dépens des **lymphocytes** qui présentent, au bout d'un mois de traitement une chute appréciable suivie chez certains d'une relèvement plus ou moins persistante ; chez d'autres (C_2), le taux décroît jusqu'à la mort, date à laquelle on obtient parfois une inversion de la formule, le nombre des polynucléaires étant supérieur à celui des lymphocytes. C'est le cas de V et C_2 , cette inversion se produit d'ailleurs parfois en cours de traitement.

Quant aux **monocytes**, si l'on excepte le lapin C, leur proportion s'accroît d'abord au début, mais on assiste à une baisse appréciable aux alentours de la mort, de sorte que le rapport $\frac{L}{M}$

après avoir d'abord fléchi quelque peu, reprend bientôt une valeur assez élevée, supérieure à la valeur initiale, et il s'y maintient jusqu'à la mort. Là encore le lapin C fait exception.

Les résultats que nous obtenons par ce traitement différent nettement de ceux obtenus pour les lapins traités préventivement, notamment par l'abaissement, au moment de la mort, du taux des monocytes et l'augmentation du rapport R qui traduiraient une résistance plus grande de l'organisme, bien que l'augmentation des polynucléaires ne soit pas un signe favorable, pouvant être due à une intoxication.

DEUXIÈME PARTIE

TRAITEMENT

PAR LE FILTRAT HUILEUX ACÉTONIQUE

Pour compléter l'expérimentation que nous venons de présenter, nous avons essayé d'étudier les effets de notre vaccin lorsqu'il est débarrassé des principes bacillaires (lipides cires) solubles dans l'acétone, principes dont les travaux de A. BOQUET et L. NÈGRE en particulier ont révélé la nocivité.

Nous avons vu, au cours du chapitre précédent, le mode de préparation d'un tel vaccin, qui diffère essentiellement du premier par un traitement des bacilles à l'acétone, suivi de dessiccation, avant la mise en suspension dans l'huile.

Nous avons entrepris un essai de traitement curatif, par voie sous-cutanée, sur deux lapins dont l'un est mort presque aussitôt après la tuberculisation. Notre étude ne portera donc en fait que sur un seul animal.

I.— Observations relatives au lapin traité.

Ce lapin E, a été *TUBERCULISÉ* le 17 mars 1942 par 20.000 B.K. bovins virulents, souche DUPRAY, le même jour que les lapins de la série précédente et par la même dose d'émulsion ; les mêmes témoins nous serviront aussi de point de comparaison.

Le traitement, commencé le 23 mars 1942, consiste en injections sous-cutanées, tous les 4 jours, de doses croissantes de vaccin

(filtrat dilué tel qu'un centimètre cube correspond à 100 millions de germes) :

2 injections de 0 cc. 10

2 injections de 0 cc. 20

2 injections de 0 cc. 30

2 injections de 0 cc. 40

Toutes les injections suivantes de 0 cc. 50 jusqu'à la fin du traitement.

L'animal traité est mort d'ailleurs prématurément, le 5 mai, 43 jours après le début du traitement, 49 après la tuberculisation ; il a reçu en 11 injections le filtrat de 350 millions de B.K.

TABLEAU DES PESÉES : (Voir courbe p. 128)

Dates	Poids
16 mars 1942 (poids initial)	1 k. 800
<i>Tuberculisation le 17 mars</i>	
26 mars	2 k. 000
13 avril	1 k. 610
24 avril	1 k. 770
5 mai	1 k. 220
	poids final (mort)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.800 g.
Poids maximum	2.000 g.
Poids final	1.220 g.
Augmentation maxima	200 g. (+ 11,1 %)
Chute finale (rapportée au poids maximum) ..	780 g. (— 39 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : normaux d'aspect et de dimensions. Toutefois, le droit présente une petite lésion grise.

Rate : Normale.

Foie : Dimensions normales, mais assez nombreuses traînées d'un blanc grisâtre.

Reins : Normaux.

Pas de *glanglions*.

L'étude de ces données ne peut nous fournir que des indications peu précises sur l'effet de notre traitement, par suite de la mort prématurée de l'animal, qui semble due à une cause étrangère, à moins qu'elle ne traduise une intoxication massive.

En effet, l'animal qui à la première pesée du 26 mars avait gagné d'emblée 200 g., accusait ensuite une chute nette de poids, après laquelle une relevée se dessinait (augmentation de 160 g. en 10 jours).

Douze jours après, l'animal mourait avec une chute brusque de 550 g. sur la dernière pesée. C'est cette chute massive, à laquelle il n'y avait pas lieu de s'attendre, qui nous porte à croire à l'intervention d'une affection intercurrente.

Mais si ces résultats, par eux-mêmes, ne sont pas très concluants, il est cependant intéressant de les comparer à ceux du témoin T, mort aussi prématurément, quelques jours seulement avant E, le 29 avril, 43 jours après la tuberculisation.

Chez celui-ci, la chute de poids est immédiate et régulière jusqu'à la mort de l'animal. Mais l'autopsie de E montre des organes sains en apparence ; on relève uniquement une petite lésion grise sur un poumon. Chez le lapin T au contraire, apparaissent déjà des signes nets d'envahissement microbien ; les poumons, un peu hyperhémisés présentent trois petites lésions et la rate est déformée par des nodules en saillie. Nous avons noté la présence de *glanglions mésentériques*.

Ce traitement, dans la mesure où nous pouvons tirer des conclusions, paraît donc exercer une action favorable qui se traduit tout au moins par un retard dans l'apparition des premières lésions tuberculeuses.

II. — Résultats sérologiques.

RECHERCHE DES AGGLUTININES :

Le 16 mars, avant la tuberculisation, les résultats de la séro-agglutination étaient les suivants :

1/5	1/10	+	+	+	+	+
1/15		+	+	+	—	—
1/20		+	—	—	—	—

et, le 16 *avril*, 30 jours après la tuberculisation, et après 24 jours de traitement (injection de 1 cc.20 de vaccin) :

1/5	1/10	1/15	+	+	+	+	+
1/20		+	+	+	—	—	
1/30		+	—	—	—	—	

L'agglutination à la mort de l'animal n'a pas été possible, l'autopsie trop tardive ne nous ayant pas permis d'obtenir du sang.

Le taux d'agglutination, qui, avant le traitement, est d'ailleurs anormalement élevé, a légèrement augmenté au bout de 24 jours (tuberculisation et injection de 1 cc.20 de vaccin).

Comparé à ceux des témoins à une date analogue (agglutination du 20 *avril*), il se révèle un peu supérieur à ces derniers (agglutination totale à la dilution de 1/10^e seulement).

Donc dans l'ensemble ce traitement ne semble pas avoir amené d'importantes variations du taux d'agglutination, par rapport aux témoins, du moins à une date peu éloignée de la tuberculisation.

III. — Etude des formules leucocytaires :

Nous rappellerons en même temps les résultats obtenus pour les lapins témoins qui ont été tuberculisés le même jour que E :

		16 mars	18 avril	19 mai
E	P	37	24	
	L	60	72	
	M	3	4	
	R	20	18	
T	P		33	
	L		61	
	M		6	
	R		10,1	
T ₁	P		50	39
	L		28	48
	M		22	13
	R		1,3	3,6

Nous avons constaté sur le frottis du 18 avril, chez le lapin E, la présence d'un trypanosome qui est sans doute le *Schizotrypanum-Cruzi*.

La formule montre, un mois après la tuberculisation et 15 jours avant la mort, une nette poussée lymphocytaire accompagnée d'une baisse des polynucléaires ; le rapport $\frac{L}{M}$ reste élevé. Cette formule témoigne donc une réaction de l'organisme contre l'envahissement bacillaire et ne semble guère présager une mort prochaine. Ceci confirmerait peut-être l'hypothèse par laquelle la mort ne serait pas due au traitement, mais bien à une autre affection, peut-être à l'invasion parasitaire dont l'existence nous a été révélée par l'étalement du 18 avril.

Nous devons reconnaître toutefois que le lapin T, mort aussi de façon prématurée, présentait à la même date une formule du même type.



CHAPITRE III

Essais sur le lapin de traitements par des bacilles dégraissés et par divers extraits bacillaires lipidiques, en milieu aqueux

VACCIN ACÉTONE AQUEUX ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ

Dans cette partie de notre travail, nous avons repris, en faisant varier les conditions d'expériences, des recherches déjà effectuées au Laboratoire de M. le Professeur HOLLANDE, sur l'*antigène méthylique dilué* (Thèse de Mlle GUERRE) et le *vaccin acétone aqueux* (Thèses de Mlle GUERRE et Mlle BORIFAX).

Il ne s'agit pas ici d'essais de vaccination, les animaux ne subissent pas d'injection d'épreuve à l'aide de bacilles virulents. Nous nous sommes attachée à suivre les réactions de lapins neufs, traités par des doses plus ou moins massives de vaccin acétone aqueux ou d'antigène méthylique, ou par une combinaison de ces deux produits selon un mode variable.

Les animaux sont suivis selon les méthodes habituelles, nous avons porté notre attention sur les variations de poids qui pourront fournir quelques indices sur la toxicité de nos vaccins, et tout spécialement, sur l'étude des agglutinines. Notre but

est en effet d'obtenir un taux d'agglutination élevé, tel qu'il était possible de l'espérer d'après les expériences antérieures de Mlle GUERRE et Mlle BORIFAX. Les animaux ainsi préparés, devaient être traités par diverses préparations microbiennes, à base de lipides pour la plupart, *extrait acétonique*, *extrait trichloracétique*, *extrait éthéro-chloroformique*, *extrait à base d'huile de paraffine*, dont nous devons étudier l'effet, sur le taux d'agglutination notamment.

La mort prématurée de la plupart des animaux traités ne nous a pas permis de remplir notre programme, de sorte que ce travail se bornera plutôt à une étude comparée du vaccin acétone aqueux et de l'antigène méthylique au point de vue de leur toxicité et de leur pouvoir de faire naître des agglutinines. Seuls l'extrait trichloracétique et l'extrait acétonique ont pu être essayés sur des animaux préparés par le vaccin acétone aqueux.

Dans ce chapitre, nous avons réuni nos animaux en trois groupes :

- 1^o) Lapins traités par le vaccin acétone aqueux (I).
- 2^o) Lapins traités par l'antigène méthylique dilué.
- 3^o) Lapins traités par l'antigène méthylique dilué et le vaccin acétone aqueux.

Dans une première partie nous étudierons les résultats des pesées et autopsies de chaque groupe, dans la deuxième, les résultats d'agglutination et dans la troisième les formules leucocytaires.

Tel est le plan que nous avons adopté dans ce chapitre, l'examen successif de chaque groupe devant nous permettre une comparaison plus facile des effets du traitement dans chacune des études envisagées.

(1) Parmi ceux-ci, deux ont reçu en outre, respectivement, de l'extrait trichloracétique (lapin X) et de l'extrait acétonique (lapin II).

PREMIÈRE PARTIE

TRAITEMENTS

RÉSULTATS DES PESÉES ET AUTOPSIES

A) LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX.

Ce vaccin, de même que le vaccin acétone huileux, est privé des lipoïdes, acides gras, matières cireuses, solubilisés par l'acétone, auxquels on a attribué une certaine toxicité et une action défavorable aussi bien sur un organisme sain que tuberculeux. Mais il contient, émulsionnés en milieu aqueux, les corps bacillaires partiellement dégraissés, une certaine portion de lipoïdes (notamment les phosphatides) insolubles dans l'acétone, restant fixée au support protéique, selon les conclusions de recherches effectuées par divers auteurs sur la composition chimique du bacille de Koch.

Nous avons exposé précédemment le mode de préparation de ce vaccin. Il est constitué par une émulsion à taux fixe de 100 millions de bacilles par cc., qui servira pour tous les traitements.

Les doses injectées ont été très variables, l'expérimentation

ayant été souvent interrompue par la mort de l'animal. Les résultats observés nous ont parfois amenée à modifier les doses en cours de traitement ou chez un animal nouvellement mis en expérience.

Dans l'ensemble nous avons eu recours à deux sortes de traitements : certains lapins ont reçu des *injections progressives* de 0 cc. 10 à 0 cc. 50 en augmentant de 0 cc. 10 toutes les deux injections.

Chez d'autres nous avons essayé un *traitement plus intensif*, la dose étant augmentée à chaque injection.

Nous étudierons donc ces deux séries successivement.

Toutes les injections sont effectuées par *voie sous-cutanée*.

1^o) *Traitement progressif.*

Les animaux reçoivent tous les 4 à 5 jours les doses suivantes :

2 injections de 0 cc. 10 (10 millions B.K. dégraissés)					
2	»	0 cc. 20	(20	»	»
2	»	0 cc. 30	(30	»	»
2	»	0 cc. 40	(40	»	»
1	»	0 cc. 50	(50	»	»

jusqu'à la fin du traitement.

Ces essais ont été effectués à diverses reprises sur différents lots de lapins.

Sur X et X₂ le traitement a été commencé le 19 mars 1942. Le premier d'entre eux a reçu de l'**extrait trichloracétique** après une préparation convenable par le vaccin acétone. Une deuxième série H₁ et H₂ a été mise en traitement le 13 avril. Enfin nous placerons dans ce groupe le lapin Y qui, destiné à un traitement simultané au vaccin acétone et au vaccin huileux complet, après préparation par le vaccin acétone seul, n'a pu subir que la première partie de son traitement. Celui-ci a été entrepris le 25 juin 1942.

a) **Lapins X - X₂**

TABEAU DES PESÉES (Voir courbe p. 131) :

<u>Dates</u>	<u>X</u>	<u>X₂</u>
16 mars 1942		
(avant traitement) .	1 k. 810	1 k. 530
26 mars	1 k. 980	1 k. 500
13 avril	2 k. 310	
24 avril	2 k. 240	
1 ^{er} et 6 mai : <i>extrait trichloracétique</i>		
7 mai	2 k. 190	
23 mai	1 k. 890	
1 juin	1 k. 720	
8 juin	1 k. 415	
	poids final (mort)	

Lapin X

TRAITEMENT :

Commencé le 19 mars. Après la 3^e injection de 0 cm. 50 (l'animal a donc reçu au total 350 millions de bacilles dégraissés), on pratique, le 1^{er} mai, une injection sous-cutanée de 0 cc. 50 d'antigène trichloracétique, provenant de 1.250.000 B.K. (1). Indépendamment de ces injections d'antigène, le traitement au vaccin acétone est poursuivi aux jours fixés, jusqu'à la mort. La même injection d'antigène trichloracétique est répétée 5 jours plus tard, le 6 mai. Au bout d'un mois, le traitement par cet antigène est repris en injections intraveineuses à doses croissantes, tous les 4 à 5 jours, selon le rythme suivi pour le vaccin acétone (2 injections de 0 cc. 10, 2 injections de 0 cc. 20 jusqu'à 0 cc. 50) : la première injection de 0 cc. 10 d'antigène trichloracétique est effectuée le 1^{er} juin, le lapin a alors reçu d'autre part 6 cc. 50 de vaccin acétone (650 millions de B.K.).

(1) Notons que la dose de B.K. dans cet antigène trichloracétique est bien plus élevée que celle de l'antigène méthylique dilué de NÈGRE et BOQUET.

Le traitement est interrompu par la mort de l'animal, qui a lieu le 8 juin, après 81 jours de vie utile. Il a alors reçu 7 cc. de vaccin et 1 cc. 10 d'antigène trichloracétique.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.810 g.
Poids maximum	2.310 g.
Poids final	1.415 g.
Augmentation maxima	500 g. (+ 27,62 %)
Perte finale (à partir du poids maximum)	895 g. (— 38,74 %)

RÉSULTAT DE L'AUTOPSIE :

A l'autopsie (8 juin) les organes sont parfaitement normaux. On note des traînées blanchâtres, dans le tissu sous-cutané de la face interne des cuisses, provenant vraisemblablement des injections.

Dimensions de la *rate* : 5 cm. × 0 cm. 6.

Lapin X₂

Ce lapin, dont le traitement a été commencé le 19 mars, est mort le 8 avril, après 20 jours de vie utile. Il a reçu 1 cc. 20 de vaccin en 6 injections, soit 120 millions de bacilles dégraissés.

EXAMEN DES POIDS :

Nous avons pu enregistrer une pesée seulement qui montre la chute de poids immédiate de l'animal.

AUTOPSIE :

Tous les organes sont normaux.

Le *foie* présente deux petites taches blanches.

Dimensions de la *rate* : 4 cm. × 0 cm. 5.

Présence d'un peu d'*ascite* dans la cavité péritonéale.

b) Lapins H₁ - H₂

Ces lapins ont reçu uniquement du vaccin acétone aqueux. Le traitement a commencé le 13 avril 1942.

TABLEAU DES PESÉES (Voir courbe p. 131) :

Dates	H ₁	H ₂
13 avril 1942 (poids initial)	1 k. 900	2 k. 120
24 avril	1 k. 710	1 k. 910
7 mai		1 k. 530
18 mai		1 k. 100
		poids final (mort)

Lapin H₁

Mort le 28 avril, après 15 jours de vie utile au cours de laquelle il a reçu seulement 0 cc. 60 de vaccin en 4 injections. La *pesée* effectuée montre une chute immédiate et importante de poids.

A l'*autopsie*, l'animal paraît sain.

Lapin H₂

Mort le 18 mai, après 35 jours de vie utile, ayant reçu 9 injections faisant un total de 2 cc. 50 de vaccin (250 millions de B.K.).

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.120 g.
Poids maximum	poids initial
Poids final	1.100 g.
Augmentation maxima	nulle
Chute finale	1.020 g. (— 48,11 %)

AUTOPSIE :

Le *foie* et les *reins* sont normaux, mais la *rate*, de petites dimensions (0 cm. 3 × 4 cm. 5) présente une petite lésion.

Les *poumons* sont hyperhémisés et présentent un assez grand nombre de lésions blanchâtres et grisâtres, de dimensions variables, atteignant jusqu'à 2 mm.

Un frottis de l'une de ces lésions, examiné au microscope, ne nous a pas permis de déceler des bacilles tuberculeux.

c) Lapin Y

Mis en traitement le 25 juin, l'animal meurt le 27 juillet, au bout de 32 jours. Il a reçu 2 cc. de vaccin (200 millions de B.K.) en 8 injections.

RÉSULTATS DES PESÉES (Voir courbe p. 131) :

25 juin 1942 (poids initial)	1 k. 600
29 juin	1 k. 420
11 juillet	1 k. 020
20 juillet	0 k. 990
27 juillet	0 k. 970
	poids final (mort)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.600 g.
Poids maximum	poids initial
Poids final	970 g.
Augmentation maxima	nulle
Chute finale maxima	630 g. (— 39,37 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Tous les organes sont sains.

Un *ganglion inguinal* droit hyalin de 1 mm.

Epanchement sanguin dans le péricarde (l'animal est mort après essai de prise de sang intracardiaque).

La mort est donc accidentelle, mais l'état de cachexie avancée de l'animal permet de penser qu'il n'aurait survécu que peu de temps.

2^o) *Traitement intensif.*

Deux lapins, I et II, sont traités à partir du 13 mai 1942 par des doses croissantes de vaccin, selon le rythme suivant :

1 ^{re} injection	de 0 cc. 10 (10 millions de B.K.)		
2 ^e	» 0 cc. 20 (20	»	»
3 ^e	» 0 cc. 30 (30	»	»
4 ^e	» 0 cc. 40 (40	»	»
5 ^e	» 0 cc. 50 (50	»	»
6 ^e	» 0 cc. 60 (60	»	»
etc..			

Le lapin II au bout d'un certain temps de préparation, subit des injections d'*extrait acétonique*.

TABEAU DES PESÉES (Voir courbe p. 131) :

Dates	I	II
13 mai 1942		
(poids initial)	2 k. 850	2 k. 250
23 mai	2 k. 600	1 k. 900
1 juin	2 k. 500	1 k. 570
10 juin	2 k. 210	1 k. 580
15 juin	1 k. 950	
20 juin	poids final (mort)	1 k. 560
	<i>Injections d'extrait acétonique</i>	
1 juillet		1 k. 350
10 juillet		1 k. 260
		poids final (mort)

Lapin I

L'animal est mort le 15 juin, après 33 jours de vie utile. Il a reçu 7 injections de vaccin, de 0 cc. 10 à 0 cc. 70, donnant un total de 2 cc. 80 (280 millions de B.K.).

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.850 g.
Poids maximum	poids initial
Poids final	1.950 g.
Augmentation maxima	nulle
Chute maxima finale	900 g. (— 31,57 %)

La chute de poids est régulière, rapide, mais à la mort le poids est encore élevé.

RÉSULTATS D'AUTOPSIE :

Les organes sont sains, l'animal est gras.

Dimensions de la *rate* : 0 cm. 3 × 3 cm. 5.

Les *poumons* sont gonflés de gaz, dilatés. L'animal semble avoir succombé à une intoxication.

Lapin II

TRAITEMENT :

Le traitement est identique au précédent, au début. La chute de poids ayant été très rapide, on a espacé les injections (huit jours d'intervalle entre les doses de 0 cc. 50 et 0 cc. 60). Par la suite, après la mort du lapin I on juge prudent de revenir à des doses plus faibles : c'est ainsi qu'après l'injection de 0 cc. 70 du 10 juin, l'animal reçoit seulement 0 cc. 10 le 16 juin, puis est laissé en repos.

Le poids paraissant se stabiliser, on injecte à deux reprises, le 26 juin et le 1^{er} juillet, par voie sous-cutanée, 0 cc. 50 d'*extrait acétonique* (correspondant à 2 milliards de B.K.) soit en tout, une quantité d'extrait correspondant à 4 milliards de germes.

L'animal est ensuite gardé en observation jusqu'à sa mort, qui a lieu le 10 juillet.

Au cours de 58 jours de vie utile, il a reçu, en 8 injections, 290 millions de bacilles dégraissés (le traitement a duré 34 jours), puis l'extrait acétonique de 4 milliards de B.K. homogène.

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.250 g.
Poids maximum	poids initial
Poids final	1.250 g.
Augmentation maxima	10 g. (+ 0,69 %)
Perte maxima finale	990 g. (— 44 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Les organes paraissent sains et normaux.

Diminution de la *rate* : 0 cm. 5 × 3 cm.

Présence d'*ascite* dans la cavité péritonéale.

Conclusions :

L'emploi du vaccin acétone aqueux, aux doses employées, se traduit donc, très régulièrement, chez tous nos animaux, par une **chute de poids** plus ou moins rapide.

Seul, le lapin X, traité en premier lieu, présente d'abord une augmentation de poids, aboutissant à un maximum le 13 avril ; nous observons ensuite une baisse légère qui devient beaucoup plus importante 10 jours après le traitement à l'antigène trichloracétique. Le poids est cependant toujours au-dessus du poids initial jusqu'à l'avant-dernière pesée, huit jours avant la mort de l'animal.

La seconde série, H₁ et H₂, montre une chute rapide et régulière. Ici, aucune tentative de relèvement : le lapin H₁ a succombé dès le début ; quant à H₂, il meurt en 35 jours, fortement cachectique (perte de poids : — 48,11 %). Il en est de même de Y dont la chute de poids est brutale aux premières pesées.

Avec un traitement plus massif, nous constatons que la chute de poids est encore plus rapide, notamment pour I. L'animal qui paraît très fort au début, meurt en un mois de traitement alors que son poids est encore considérable (1.950 g.).

Chez II une chute brusque s'observe aussi au début, suivie d'une sorte de stabilisation correspondant à la période où les injections sont espacées et les doses diminuées. La chute reprend très nettement après les deux injections d'extrait acétonique, l'animal succombe dix jours après la seconde.

Quant aux **autopsies**, elles révèlent le **plus** souvent des organes sains, apparemment indemnes de tuberculose. Seul le lapin H₂ présente un tableau tout à fait spécial, par les lésions à aspect douteux que l'on relève sur son poumon et sa rate. S'agit-il d'une affection toxique bacillaire, ou d'une affection

indéterminée qui a contribué au déclin rapide de l'animal ? Nous ne pouvons traduire. Notons toutefois que nous n'avons pu déceler de B.K. par l'examen microscopique du frottis d'une de ces lésions.

Dans l'ensemble, ces résultats paraissent témoigner une *intoxication* de nos animaux par les bacilles dégraissés à l'acétone, intoxication qui semble laisser les organes indemnes de lésions, mais se traduit par un état de cachexie plus ou moins avancé, et par la mort à brève échéance de l'animal. Chez les animaux particulièrement forts, tel II (2.850 g.), la mort a lieu néanmoins en un bref délai, avant même que l'animal soit devenu cachectique.

Ces résultats paraissent en contradiction avec ceux qui ont été déjà obtenus au cours de travaux analogues (*Thèses* de Mlle GUERRE et Mlle BORIFAX), mais ces différences proviennent vraisemblablement des doses employées. Les animaux traités par ces auteurs présentaient en effet une augmentation régulière du poids jusqu'à la tuberculisation, ou tout au moins pendant un mois et demi, la chute enregistrée ensuite était toujours légère. Mais les doses utilisées, assez variables, étaient beaucoup plus faibles que les nôtres (200 à 1000 fois plus faibles), de sorte que la toxicité du produit n'était pas appréciable.

D'autre part les extraits essayés, *antigène trichloracétique* et *extrait acétonique*, paraissent avoir une **action néfaste**, aux doses employées, ce résultat étant net surtout pour le second qui entraîne une chute rapide bientôt suivie de mort.

L'action de l'antigène trichloracétique est plus douteuse, le rythme de chute paraît plus rapide cependant qu'avant son injection, mais l'animal résiste encore un mois, et c'est seulement après le début d'un traitement intraveineux par de faibles doses de cet antigène, qu'il finit par succomber.

B) LAPINS TRAITÉS PAR L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ.

Parallèlement au vaccin acétone aqueux nous avons fait l'essai de l'antigène méthylique dilué qui contient, après élimination des mêmes principes toxiques du B.K. par l'acétone, les lipides phosphatidiques retirés des bacilles à l'aide d'alcool méthylique. C'est donc un extrait qui, à l'encontre du premier vaccin, est privé de la plupart des protéines bacillaires ainsi que de certaines substances lipoïdiques demeurées fixées aux corps microbiens. *

Trois de nos lapins ont reçu uniquement des injections d'antigène soit qu'ils étaient réellement destinés à ce traitement unique institué pour étudier la toxicité de cet extrait et son pouvoir antigénique pour la création d'agglutinines, soit qu'on n'ait pu compléter, par des injections d'un autre produit le traitement qu'ils devaient subir, par suite de la mort prématurée du sujet : c'est le cas de Y₂ qui a reçu seulement la 1^{re} dose du vaccin acétone aqueux destiné à la seconde partie de son traitement.

Le traitement est effectué par voie *sous-cutanée*.

Comme précédemment, ces animaux peuvent être classés en deux groupes selon le taux et le nombre des injections effectuées.

1^o) *Traitement progressif.*

Nous avons adopté ici le mode de traitement habituel exposé précédemment pour le vaccin acétone aqueux :

Doses croissantes, toutes les deux injections, de 0 cc. 10 à 0 cc. 50 par voie sous-cutanée, tous les 4 à 5 jours.

Les deux lapins consacrés à cette étude sont morts prématurément.

Lapin Z₁

Mis en traitement le 19 mars 1942, l'animal est mort le 8 avril. Il a reçu 0 cc. 90 d'antigène en 5 injections au cours de 20 jours de vie utile.

RÉSULTATS DES PESÉES :

16 mars 1942 (poids initial)	1 k. 560
26 mars	1 k. 500

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : Normaux.

Rate : Normale : 5 cm. × 0 cm. 6.

Foie : Quelques traînées grisâtres.

Reins : Quelques tâches hémorragiques sur la gauche.

Présence de *ganglions* lombaires assez volumineux, d'aspect granitoïde.

Une légère *ascite* dans la cavité péritonéale.

Lapin Z₂

Ce lapin est mis en expérience le 13 avril pour remplacer le précédent. Il meurt le 25 avril, après 12 jours de traitement ; il a reçu 0 cc. 50 d'antigène méthylique en 3 injections.

EXAMEN DES POIDS :

13 avril 1942 (poids initial)	2 k. 320
24 avril 1942 (poids final, mort)	1 k. 910
Perte de poids	0 k. 410 (— 17,67 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Les organes sont normaux, mais les intestins sont distendus par des gaz. L'animal est mort à la suite d'une diarrhée qui a duré deux jours.

2^o) *Traitement intensif.*

Un lapin, Y₂, a reçu à partir du 25 juin, 4 injections sous-cutanées d'antigène méthylique dilué aux doses suivantes :

1 ^{re} injection :	0 cc. 25
2 ^e » :	0 cc. 50
3 ^e » :	0 cc. 75
4 ^e » :	1 cc.

Ces injections sont toujours espacées de 4 à 5 jours. Le traitement devait comporter par la suite des injections simultanées de vaccin acétone aqueux et vaccin huileux complet, mais l'animal est mort dès la 1^{re} injection de 0 cc. 10 de vaccin acétone.

La durée de la vie utile a été de 23 jours, il a été injecté 2 cc. 50 d'antigène dans le courant des 12 premiers jours et 0 cc. 10 de vaccin acétone, 3 jours avant la mort.

RÉSULTATS DES PESÉES (Voir courbe p. 131) :

25 juin 1942 (avant traitement)	1 k. 600
29 juin	1 k. 730
11 juillet	1 k. 180
18 juillet	1 k. 100
	poids final (mort)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.600 g.
Poids maximum	1.730 g.
Poids final	1.100 g.
Augmentation maxima	130 g. (+ 8,12 %)
Perte maxima finale	630 g. (— 36,41 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : Normaux. Le gauche est fortement hémorragique (l'animal a subi une prise de sang par ponction cardiaque deux jours avant sa mort).

Reins : Normaux.

Rate : Normale. Dimensions : 5 cm. × 0 cm. 5.

Foie : Présente quelques lésions blanches nettement délimitées et assez dures, à sa face postérieure. La face antérieure porte aussi une lésion, elle présente en outre des plages décolorées, jaunâtres, d'aspect chagriné.

Pas de *ganglions*.

Ces résultats sont donc très peu concluants, car les animaux sont morts avant que l'effet du traitement ait pu paraître de façon appréciable, tout au moins pour les deux premiers.

La mort rapide de Z_2 peut être attribuée à une affection intercurrente d'origine intestinale.

Quant au lapin Y_2 , il montre d'abord une augmentation de poids appréciable au début du traitement, suivie d'une chute brusque de 550 g. La mort survient 7 jours plus tard. :

Notons cependant que l'emploi de doses fortes ne paraît pas exercer sur l'animal un effet plus défavorable que des doses faibles et lentement progressives, car le lapin Y_2 , consacré au premier de ces traitements, est le seul qui ait manifesté au début une tendance à augmenter de poids ; il est vrai que la chute a été ensuite soudaine et considérable (550 g. en dix jours).

C) LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX, ET L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ.

Après avoir étudié séparément l'effet de ces deux vaccins nous exposerons les résultats obtenus en combinant leur action, selon une technique variable, sur un même animal.

C'est ainsi que chacun des trois lapins classés dans ce groupe a reçu un traitement particulier :

C_1 et Z ont reçu successivement l'antigène méthylique dilué, puis le vaccin acétone, mais le premier n'a reçu que très peu d'antigène, alors que le second au contraire en a reçu une quantité importante.

Y_1 a reçu successivement les deux séries d'injections qui ont été reprises simultanément par la suite.

Les doses ont été variables, et seront exposées dans le détail de chaque traitement, ainsi que le mode d'injection qui a été tantôt sous-cutané, tantôt intraveineux.

Lapin C_1

TRAITEMENT :

L'animal a subi du 24 février au 7 mars, trois injections intraveineuses de 0 cc. 10 d'antigène méthylique. A partir du

12 mars on a injecté par voie sous-cutanée le *vaccin acétone aqueux* (la première dose a été par exception intraveineuse), par doses croissantes selon notre méthode habituelle :

2 injections de 0 cc. 10 de vaccin acétone aqueux .					
2	»	0 cc. 20	»	»	»
2	»	0 cc. 30	»	»	»
2	»	0 cc. 40	»	»	»
11	»	0 cc. 50 (jusqu'à la fin du traitement)			

L'animal est mort le 25 mai après 90 jours de vie utile ; il a reçu en 15 jours 0 cc. 30 d'antigène méthylique (en 3 injections), et en 75 jours 7 cc. de vaccin acétone aqueux soit 700 millions de B.K. (en 18 injections).

PESÉES : (Voir courbe p. 131)

24 février 1942 (poids initial)	2 k. 180
2 mars	2 k. 130
12 mars (<i>début du traitement au vaccin acétone aqueux</i>)	2 k. 100
26 mars	2 k. 060
13 avril	2 k. 240
24 avril	2 k. 110
7 mai	2 k. 000
23 mai	1 k. 640
25 mai	poids final (mort)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.180 g.
Poids maximum	2.240 g.
Poids final	1.640 g.
Augmentation maxima	180 g. (+ 8,74 %)
Perte maxima finale	600 g. (— 26,78 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : Lésions blanchâtres et grisâtres, de tailles variables, petites pour la plupart ; 1 mm. environ, l'une atteint 2 mm.

Foie : Normal, quelques traînées blanches.

Rate : Normale ; dimensions : 6 cm. $\times$ 0 cm. 6.

Reins : Normaux.

On retrouve encore ici la présence de trainées blanchâtres, dures, dans le tissu sous cutané de la face interne des cuisses, aux points d'injection.

Lapin Z

TRAITEMENT :

Du 19 mars au 22 avril on a administré l'*antigène méthylique* par voie intraveineuse, aux doses suivantes :

2 injections de 0 cc. 10 d'antigène méthylique dilué					
2	»	0 cc. 20	»	»	»
2	»	0 cc. 30	»	»	»
1	»	0 cc. 40	»	»	»
2	»	0 cc. 50	»	»	»

A partir du 25 avril on entreprend un traitement *sous-cutané* par le *vaccin acétone aqueux* à doses croissantes, selon un rythme plus rapide que d'ordinaire :

1 injection de 0 cc. 10 de vaccin acétone aqueux					
1	»	0 cc. 20	»	»	»
1	»	0 cc. 30	»	»	»
1	»	0 cc. 40	»	»	»
n	»	0 cc. 50	(jusqu'à la mort de l'animal)		

L'animal succombe le 8 juin après 81 jours de vie utile.

Il a reçu au total :

2 cc. 60 d'antigène méthylique en 37 jours (9 injections)
puis 4 cc. de vaccin acétone aqueux soit 400 millions de B.K.
en 44 jours (10 injections).

PESÉES : (Voir courbe p. 131)

16 mars 1942 (poids initial)	1 k. 650
26 mars	1 k. 710
13 avril	1 k. 890
24 avril	1 k. 830
25 avril : début du traitement au vaccin acétone aqueux.	

7 mai	1 k. 910
23 mai	1 k. 570
1 juin	1 k. 350
8 juin	1 k. 050
	poids final (mort)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	1.650 g.
Poids maximum	1.910 g.
Poids final	1.050 g.
Augmentation maxima	260 g. (+ 15,75 %)
Chute maxima finale	860 g. (— 49,02 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Poumons : Normaux.

Foie : Quelques traînées blanc grisâtre.

Rein : Taches hémorragiques sur le gauche.

Rate : Normale. Dimensions : 5 cm. × 0 cm. 6.

Ganglions lombaires assez gros, d'aspect granitoïde.

Lapin Y₁

Le traitement commencé le 25 juin 1942 consiste d'abord en injections sous-cutanées d'antigène *méthylrique* aux doses suivantes :

1 ^{re} injection :	0 cc. 50 d'antigène méthylrique dilué
2 ^e » :	1 cc. » » »
3 ^e » :	1 cc. 50 » » »
4 ^e » :	2 cc. » » »

Soit un total de 5 cc. d'antigène en 20 jours.

A partir du 15 juillet, l'animal reçoit uniquement du *vaccin acétone aqueux*, par voie sous-cutanée :

1 ^{re} et 2 ^e injections :	0 cc. 10 de vaccin acétone aqueux
3 ^e et 4 ^e » :	0 cc. 20 » » »
5 ^e et 6 ^e » :	0 cc. 30 » » »
7 ^e et 8 ^e » :	0 cc. 40 » » »

En un mois la dose totale reçue est donc de 2 cc. (200 millions de B.K.), répartie en 8 injections.

Enfin du 20 août au 1^{er} septembre, on *injecte simultanément les deux vaccins* (une injection à chaque cuisse) : pour le vaccin acétone, on utilise une dose constante de 0 cc. 50, pour l'antigène méthylique on reprend les doses croissantes administrées en premier lieu : 0 cc. 50, 1 cc., 1 cc. 50, 2 cc.

En 10 jours l'animal reçoit donc à nouveau 5 cc. d'antigène méthylique et 2 cc. de vaccin acétone (soit 200 millions de B.K.) en quatre séries de deux injections simultanées, On le sacrifie 15 jours plus tard, le 15 septembre, après 82 jours de vie utile.

Signalons que le vaccin acétone utilisé provient d'une émulsion-mère fraîchement préparée.

PESEES : (Voir courbe p. 131)

25 juin 1942 (poids initial).....	2 k. 260
29 juin	2 k. 360
11 juillet	2 k. 330
15 juillet : 1 ^{re} injection de vaccin acétone aqueux	
20 juillet	2 k. 000
30 juillet	2 k. 170
8 août	2 k. 055
17 août	2 k. 250
21 août : 1 ^{res} injections : vaccin acétone + antigène méthylique	
29 août	2 k. 310
8 septembre	2 k. 330
15 septembre	2 k. 360
	poids final (sacrifié)

EXAMEN DES POIDS :

Poids initial	2.260 g.
Poids maximum	2.360 g.
Poids final	2.360 g.
Augmentation maxima finale	360 g. (+ 18 %)
Chute maxima	360 g. (— 15,25 %)

RÉSULTATS DE L'AUTOPSIE :

Effectuée le 15 septembre 1942.

Les organes sont sains et normaux.

Seul le foie présente quelques rares taches blanches.

Dimensions de la rate : 6 cm. $\times$ 0 cm. 7

L'animal est très gras, les reins en particulier sont entourés de graisse.

Conclusions :

Ce traitement combiné paraît donner dans l'ensemble des résultats plus favorables que les deux premiers, surtout que l'emploi du vaccin acétone seul.

Nous constatons en effet chez C_1 pendant la courte période où l'on injecte l'antigène, une faible chute, assez normale au début d'un traitement. Au cours d'un mois d'injections de vaccin acétone, (2 cc. environ), l'animal accuse une remontée de 8,7 % qui aboutit le 13 avril au poids maximum, supérieur au poids initial. On enregistre par la suite une chute de poids régulière jusqu'à la mort de l'animal qui a lieu 40 jours après (pourcentage de chute : —26,78 %).

Pour Z , l'augmentation est régulière pendant toute la durée des injections d'antigène (35 jours) et le poids maximum est obtenu dans les premiers jours du traitement par le vaccin acétone ; la chute de poids est ensuite très rapide ; elle est ici de —45 % à la mort de l'animal, qui a lieu un mois plus tard.

Le traitement plus intensif au vaccin acétone s'est donc traduit par une perte de poids plus rapide et plus forte que pour C_1 . L'animal paraît cependant résister plus énergiquement que le lapin II (vaccin acétone seul ; traitement intensif) qui, pour des doses équivalentes à la même époque, survit seulement un mois, au lieu de un mois et demi.

Quant au lapin Y_1 les résultats observés sont nettement favorables. On note une légère augmentation de poids au cours des injections massives d'antigène. Il se produit une chute

appréciable quand l'antigène est remplacé par le vaccin acétone, mais le poids présente immédiatement une tendance à la remontée qui se produit de façon appréciable vers la fin de cette période (augmentation de 250 g.) — l'animal a reçu alors 2 cc. de vaccin acétone — et qui se poursuit lentement, mais de façon régulière pendant les injections simultanées, des deux vaccins ; quand l'animal est sacrifié, quinze jours après la dernière injection, il est en pleine santé et le poids atteint son maximum ; à l'autopsie, il est très gras et les organes sont sains.

Le traitement a donc été ici *particulièrement bien toléré*, et nous avons pu relever une augmentation presque constante du poids au cours du traitement au vaccin acétone qui a duré au total un mois et demi et au cours duquel on a administré 4 cc. de vaccin, (400 millions de B.K.), quantité dont l'injection chez les autres animaux se traduisait constamment par une chute rapide et la mort à brève échéance.

Remarquons que les deux seuls animaux des séries précédentes, qui paraissent aussi avoir bien supporté le vaccin acétone (tout au moins pendant les premières injections), C₁ et X, recevaient du vaccin préparé avec une émulsion-mère toute récente. C'est aussi le cas de Y₁ pour lequel on a dû refaire l'émulsion-mère, la première ayant été épuisée au cours des traitements précédents.

Peut-être intervient-il un facteur dû au vieillissement des vaccins dans les phénomènes observés sur la plupart de nos animaux, et qui semblent traduire une intoxication ?

Il semble néanmoins que l'on puisse penser que l'antigène méthylique a neutralisé en grande partie l'action toxique du B.K.

DEUXIÈME PARTIE

RÉSULTATS SÉROLOGIQUES

Cette recherche est importante car c'est dans le but d'obtenir un taux d'agglutination élevé que nous avons entrepris ces divers traitements, taux dont nous devons étudier les variations sous l'influence d'un traitement ultérieur avec divers produits d'origine microbienne, tels l'extrait acétonique ou l'antigène trichloracétique.

Mais les résultats que nous présentons dans ce chapitre sont aussi fort incomplets par suite des difficultés auxquelles nous nous sommes heurtées pour prélever le sang. Nous avons dû parfois avoir recours à une ponction intracardiaque.

En principe les prélèvements sont effectués tous les 20 jours ou à l'occasion d'un changement de traitement.

Nous suivrons dans cette étude le même ordre que dans la première partie.

A) LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX.

1°) *Traitement progressif.*

Rappelons que le traitement consiste en injections sous-cutanées à doses croissantes de 0 cc. 10 à 0 cc. 50, par augmentation de 0 cc. 10 toutes les deux injections, le taux étant maintenu ensuite à 0 cc. 50 jusqu'à la fin.

a) **Lapins X - X₂** (Voir courbe p. 131)

Lapin X

Au bout d'un mois et demi de traitement il a reçu en injections sous-cutanées 1 cc. d'antigène trichloracétique, réparti

en deux injections de 0 cc. 50 chacune, puis, une seule fois, par voie intraveineuse, avant sa mort, une injection de 0 cc. 10 du même produit.

<i>Durée traitement ..</i>	28 jours	37 jours	61 jours	70 jours	81 jours (m)
<i>Nombre de bacilles injectés (en mill.) ...</i>	160	250	550	650	700
<i>Antigène trichloracétique injecté</i>			1 cc.	1 cc.	1 cc. 10
Dilutions					
1/70	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
1/80	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
1/90	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
1/100	+++++ (1)	++ ---	+++++ (1)	+++++	+++++
1/110		+ ---		+++++	+++++
1/120		+ ---		+++ ---	+++++
1/200		+ ---			+++++

Injection de 0 cc. 50 antigène trichloracétique S. C. aux 43^e et 48^e jour de traitement.

Inj. de 0 cc. 10 antigène trichloracétique I. V. au 73^e jour de traitement.

La première agglutination a été faite à la goutte.

La première agglutination a été faite à la goutte.

Lapin X₂

Traité uniquement au vaccin acétone aqueux.

<i>Nombre de bacilles injectés</i>	Avant traitement	Durée du traitement
Dilutions		21 jours (mort) 120 millions
1/5	+++++	+++++
1/10	+++++	+++++
1/15	++ ---	+++++
1/20		+++++
1/50		+++++
1/60		+++++
1/70		+++++
1/80		+++ ---

(1) La réaction a dû être certainement sensible à des taux plus élevés, mais par suite du manque de sérum nous n'avons pu préparer les dilutions supérieures.

b) **Lapins H₁ - H₂** (Voir courbe p 131.)

	Lapin H₁	Lapin H₂
A reçu	4^e jour de traitement 10 millions de B.K.	35^e jour de traitement (mort) 250 millions de B.K.
Dilutions		
1/10	+ + + + +	+ + + + +
1/15	+ + + + +	+ + + + +
1/20	+ + + — —	+ + + + —
1/30	+ + — — —	+ + + — —
1/40	+ — — — —	+ + — — —
1/50		+ + — — —

c) **Lapin Y** (Voir courbe p. 131)

Les prises de sang n'ayant rien donné par la méthode habituelle, on a eu recours à une ponction intracardiaque (l'animal est mort une heure plus tard).

L'agglutination a lieu après 32 *jours de traitement*.

Nombre de bacilles injectés : 200 millions.

1/15		+ + + — —
1/20		+ + — — —
1/30	1/40	+ — — — —

2^o) *Traitement intensif.*

Lapins I et II (Voir courbe p. 131)

Les injections de vaccin acétone, sous-cutanées, sont encore croissantes de 0 cc. 10 à 0 cc. 50 où elles sont maintenues, mais l'augmentation par dixième de centimètre cube, est faite à chaque injection.

Lapin I

	1 ^{re} agglutination 21 jours	2 ^e agglutination (mort) 33 jours
<i>Durée du traitement</i>		
<i>Nombre de B.K. injectés</i>	140 millions	270 millions
Dilutions		
1/5	+ + + + +	+ + + + +
1/10	+ + + + +	+ + + + +
1/15	+ + + + +	+ + + + +
1/20	+ + + + +	+ + + + +
1/30	+ + + + +	+ + + + +
1/40	+ + + + +	+ + + + +
1/50	+ + + + +	+ + + + +
1/60	+ + + + +	+ + + + +

Lapin II

Un mois et demi environ après le début de son traitement, cet animal reçoit, à cinq jours d'intervalle, 2 injections de 0 cc. 50 chacune, d'extrait acétonique par voie sous-cutanée.

	1 ^{re} aggl. 21 jours	2 ^e aggl. 36 jours	3 ^e aggl. 44 jours	B. K. 4 milliards	4 ^e aggl. 50 jours	5 ^e aggl. (2) 58 jours
<i>Durée traitement ..</i>						
<i>Nombre B.K. inj.</i>	140 millions	280 millions	280 millions		280 millions	280 millions
Dilutions					+ 1 cc. extrait acéto	
1/5	+++++	+++++	+++++	Inj. ext. acétonique ↑ 4 milliards B. K.	+++++	+++++
1/10	+++++	+++++	+++++		+++++	+++++
1/15	+++++	+++++	+++++		+++++	+++++
1/20		+++++	+++++		+++++	+++++
1/30		+++++	+++++		+++++	+++++
1/40		+++++	+++++		+++++	+++++
1/50		+++++	+++++		+++++	+++++
1/60		+++++	+++++		+++++	+++++
1/70		+++++	+++++		+++++	+++++

Les première et troisième agglutinations ont été faites à la goutte.

Conclusions :

L'examen de ces résultats met en lumière les faits suivants : Le premier traitement, par doses progressives, permet la **montée du taux des agglutinines**, tout au moins chez la première série d'animaux traités par du vaccin fraîchement préparé.

C'est le cas du lapin X dont le taux atteint le 1/100 au minimum (on n'a pu utiliser des dilutions supérieures) après avoir reçu 160 millions de bacilles dégraissés, en un mois à peine.

Toutefois, une nouvelle réaction, effectuée dix jours plus tard, pour préciser le taux à des dilutions supérieures, avant d'entreprendre le traitement par l'extrait trichloracétique, a montré une baisse au 1/80 de ce taux. La réaction est cependant encore sensible au 1/200.

Nous constatons d'autre part que l'antigène trichloracétique, n'a pas fait baisser ce taux. En effet, la réaction effectuée le 18^e jour après la 2^e injection d'antigène donne une agglutination totale au moins au 1/100 ; refaite 8 jours plus tard on obtient au 1/120 : + + + — —, tandis qu'avant ce traitement, cette même dilution était notée : + — — — —. L'agglutination totale s'arrête au 1/90. Enfin, l'agglutination effectuée à la mort de l'animal, 8 jours après une injection intraveineuse de 0 cc. 10 d'antigène, montre une augmentation de ce taux : la réaction est totale au 1/110 au minimum.

Donc, *l'antigène n'a pas fait décroître le taux des agglutinines* qui s'est accru au contraire légèrement, et s'est trouvé maximum à la mort de l'animal ; on n'a donc pas observé ici la chute qui d'ordinaire précède la mort ; la même remarque peut être faite à propos de X₂ qui, à sa mort, après 21 jours de traitement, présente une agglutination totale au 1/60.

Les lapins du 2^e groupe, H₁ et H₂, nous permettent de constater que, quatre jours seulement après le début du traitement (dose injectée : 10 millions), la réaction est déjà positive. Par contre, H₂, à sa mort, présente une réaction sensiblement égale : la réaction totale s'arrête aussi au 1/15, alors que X après un traitement analogue (2^e agglutination)

montait au 1/80. Peut-être aussi dans le cas de H₂ la mort a-t-elle été précédée de la chute du taux des agglutinines ?

Quant au lapin Y du 3^{me} groupe, qui a vécu à peu près le même temps que H₂, la réaction à la mort montre un taux encore plus faible ; le 1/15 est noté seulement : + + + — —.

En somme, pour ces animaux, nous ne pouvons savoir si au cours d'un mois environ qu'à duré le traitement, le taux des agglutinines s'est accru, mais à leur mort, il apparaît de plus en plus bas.

Le traitement à doses plus rapidement croissantes ne nous donne pas un taux très élevé si nous comparons à X, X₂, plus élevé cependant que pour H₁, H₂, Y (réaction totale au 1/30 pour II en 36 jours).

Chez I la comparaison des résultats au 21^e et 33^e jour montre que le taux n'a guère laissé à la mort.

Par contre l'*extrait acétonique* semble le faire décroître très rapidement. En effet, la recherche des agglutinines effectuée dès le lendemain de la 2^e injection montre déjà un commencement de chute (l'agglutination, auparavant totale au 1/30, ne l'est plus qu'au 1/20) ; huit jours plus tard une nouvelle agglutination (l'animal est mort) est négative ; la chute a donc été très rapide et totale, contrairement à ce que nous avons pu relever jusqu'ici chez d'autres lapins.

Dans l'ensemble le vaccin acétone aqueux fait donc monter de façon inégale le taux des agglutinines qui semble atteindre une valeur d'autant plus élevée que les doses sont plus lentement progressives ; il a paru plus élevé aussi quand le vaccin était fait de fraîche date (peut-être s'agit-il d'une simple coïncidence ?).

Ce produit, toxique, provoque la mort des animaux au bout d'un temps plus ou moins long, selon les doses ou la résistance des sujets ou d'autres causes, mais cet effet, qui se traduit par une cachexie plus ou moins marquée, ne paraît guère influencer sur le taux d'agglutination qui se maintient (ou presque) à la mort de l'animal, au niveau maximum obtenu au cours du traitement. Remarquons toutefois que les animaux qui ne

résistent que peu de temps ne paraissent pas réagir en formant des agglutinines car leur taux demeure à peu près constant.

D'autre part l'antigène trichloracétique qui, nous l'avons vu, n'a pas provoqué une diminution de poids appréciable, ne semble pas davantage exercer une action défavorable sur le taux des agglutinines. Par contre, l'extrait acétonique, qui par ailleurs s'est révélé éminemment toxique, a provoqué une chute immédiate et totale des agglutinines.

B) LAPINS TRAITÉS PAR L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ.

Divers travaux dont ceux de NÈGRE et BOQUET (1921, 1922), ont établi la valeur antigénique de cet extrait aussi bien in vitro, par ses propriétés fixatrices, qu'in vivo, car il crée dans le sérum des anticorps décelables par la méthode de déviation du complément. C'est pourquoi nous avons essayé de voir s'il était capable de créer chez le lapin des agglutinines en quantité importante. Nous avons été encouragée dans cette recherche par les résultats obtenus par Mlle GUERRE (*Thèse de Pharmacie*, Montpellier, 1941) qui avait obtenu ainsi en deux mois (injections d'un total de 3 cc. 6) des taux de 1/150 et 1/200 respectivement selon qu'elle opérait par voie sous-cutanée ou intraveineuse.

En 27 jours (injection de 0 cc. 6) l'agglutination était déjà totale au 1/100.

Mais ce traitement était précédé d'une injection intradermique de 80 millions de bacilles homogènes autoclavés.

1^o) *Traitement progressif.*

Sur Z₂, mort au bout de 12 jours de traitement, nous n'avons pu effectuer de réaction.

Lapin Z₁

Une seule réaction a été pratiquée (à la goutte) lors de la

mort, après 20 jours de traitement au cours desquels il a été injecté 0 cc. 90 d'antigène.

1/5	1/10	+	+	+	+	+
1/15		+	+	+	—	—
1/20		+	+	—	—	—
1/30		+	—	—	—	—

2^o) Traitement intensif.

Lapin Y₂

Ici encore la réaction n'a pu être effectuée qu'à la mort de l'animal, survenue comme pour le précédent en 20 jours ; mais le volume d'antigène injecté est de 2 cc. 50.

1/5		+	+	+	+	+
1/10	1/15	+	+	+	—	—
1/20		+	—	—	—	—

Conclusions :

Contrairement au résultat attendu, nous n'avons donc pu observer en aucun cas une augmentation du taux d'agglutination ; elle est tout au moins très faible.

La réaction pour Z₁ est totale au 1/10, pour Y₂ au 1/5 1/5 seulement. L'agglutination disparaît complètement au 1/30 et 1/20. Le 1^{er} traitement, moins brutal, semblerait donner un résultat plus favorable que le second.

La différence entre nos résultats et ceux de Mlle GUERRE doit être attribuée selon toute probabilité à l'injection intradermique qui a créé un état d'allergie. L'injection ultérieure d'antigène sur l'animal ainsi préparé a pu provoquer une formation plus intense d'agglutinines que ne l'aurait fait l'injection intradermique seule.

C) LAPINS TRAITÉS PAR L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ ET LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX.

Dans ce groupe nous exposons une suite de l'étude précédente car nos lapins reçoivent d'abord l'antigène seul. Nous verrons ensuite ce que devient le taux d'agglutination quand on substitue un traitement par le vaccin acétone seul ou accompagné d'injections d'antigène.

Lapin C₁ (Voir courbe p. 131)

Nous rangeons ce lapin dans ce groupe car il a reçu pendant un temps, assez court, il est vrai, de l'antigène méthylique (3 injections intraveineuses de 0 cc. 10 chacune) ; mais il était destiné, en fait, à servir de témoins à X mis en traitement au moment où commençaient chez C₁ les injections de vaccin acétone qui furent donc poursuivie selon le même rythme. Par la suite, X recevait de l'antigène trichloracétique, de sorte qu'il sera intéressant de comparer les résultats obtenus.

	1 ^{re} agglutination	2 ^e agglutination (mort)
<i>Durée du traitement total</i> ..	65 jours	91 jours
<i>Trait. à l'antigène méthyl.</i> .	16 jours → 0 cc. 30	16 jours → 0 cc. 30
<i>Trait. au vaccin acétone aq.</i>	49 jours → 4 cc. 10	75 jours → 7 cc.
	(410 millions de B.K.)	(700 millions B.K.)
Dilutions		
1/50	+ + + + +	+ + + + +
1/60	+ + + + +	+ + + + +
1/70	+ + + + +	+ + + + —
1/80	+ + + + +	+ + + — —
1/90	+ + + + +	+ + + — —
1/100	+ + + + +	+ — — — —
1/110	+ + + + +	
1/120	+ + + + —	

La 1^{re} agglutination a été faite après ponction cardiaque. Nous n'avons pu, faute de sang, faire cette recherche à la fin du traitement à l'antigène.

Lapin Z (Voir courbe p. 131)

Celui-ci a reçu de l'antigène méthylique intraveineux pendant plus d'un mois ; on a substitué ensuite du vaccin acétone par voie sous-cutanée.

	1 ^{re} agglutination	2 ^e agglutination	3 ^e agglutination
<i>Durée trait. total ...</i>	32 jours	62 jours	81 jours
<i>Trait. à l'antigène.</i>	32 j. → 2 cc. 10	36 jours → 2 cc. 60	
<i>Trait. vaccin acét...</i>		26 j. → 2 cc. 50	44 j. → 4 cc.
Dilutions			
1/5	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +
1/10	+ + + + +	+ + + + —	+ + + + +
1/15	+ + + + —	+ + + + —	+ + + + +
1/20	+ + + — —	+ + + — —	+ + + + +
1/30	+ — — — —	+ + — — —	+ + + + +
1/40		+ — — — —	+ + + + +
1/50		— — — — —	

La première agglutination a été effectuée à la goutte.

Lapin Y₁ (Voir courbe p. 131)

Cet animal a d'abord reçu l'antigène seul (4 injections à taux croissant rapidement), puis du vaccin acétone seul (traitement progressif), puis à nouveau le même traitement par l'antigène, chaque dose étant administrée en même temps que 0 cc. 50 de vaccin acétone.

	1 ^{re} agglutination	2 ^e agglutination	3 ^e agglut. (sacrif.)
<i>Durée trait. total .</i>	20 jours	57 jours	83 jours
<i>Trait à l'antigène.</i>	20 j. → 5 cc. 20	20 j. → 5 cc.	20 j. → 5 cc.
<i>Trait. vaccin acét...</i>		37 j. → 2 cc.	37 j. → 2 cc.
<i>Trait. simultané ...</i>			26 j. (antig. 5 cc. (V. acét. 2 cc.
Dilutions			
1/5	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +
1/10	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +
1/15	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +
1/20	+ + + — —	+ + + + +	+ + + + +
1/30	+ + + — —	+ + + + +	+ + + + +
1/40	+ — — — —	+ + + + +	+ + + + +

1/50	+ — — — —	+ + + + +	+ + + + +
1/60		+ + + + —	+ + + + +
1/70		+ + + + —	+ + + + +
1/80		+ + + — —	+ + + + +
1/90		+ + + — —	+ + + + —
1/100			+ + + — —
1/110			+ + + — —
1/120			+ + — — —
1/130			+ — — — —

Conclusions :

Voici les conclusions que nous suggèrent ces résultats :

1^o) En confirmation des observations précédentes, l'**anti-gène seul**, aussi bien en injections intraveineuses (Z) que sous-cutanées (Y₁), à doses lentement croissantes (Z) ou en injections massives, mais de nombre restreint (Y₁), *n'est pas capable de faire croître de façon appréciable le taux des agglutinines*. En effet, chez Z, en un mois la réaction est totale au 1/10, sensible jusqu'au 1/30 ; Y₁ qui, en 20 jours, reçoit une dose plus que deux fois plus forte (5 cc.), présente une réaction totale au 1/5 seulement, mais l'agglutination partielle se manifeste jusqu'au 1/50.

2^o) Si nous essayons de dégager l'influence des **deux traitements combinés** sur le taux d'agglutination, nous constatons que des doses faibles d'antigène (lapin C₁) au début, ne paraissent pas modifier l'effet du traitement ultérieur au vaccin acétone qui agit vraisemblablement comme s'il était seul : en effet, la réaction est totale au 1/110 pour C₁ qui a reçu en 49 jours 4 cc. 10 de vaccin acétone, le taux est donc un peu plus élevé que pour X qui a reçu 2 cc. 50 en 37 jours (réaction totale au 1/80 manifeste jusqu'au 1/200).

Par contre chez le lapin Z dont le traitement à l'antigène a été important (2 cc. 10 en un mois), le taux d'agglutination après changement de traitement et injection de vaccin acétone ne croît que lentement : en effet 2 cc. 50 de ce vaccin en 26 jours donnent une réaction sensible jusqu'au 1/40 à peine, totale au 1/5 seulement, donc à peine différente de la première

effectuée au cours du traitement à l'antigène seul. Mais 20 jours plus tard la réaction devient totale au 1/40, au minimum (elle n'a pas été poussée plus loin faute de sérum).

Remarquons en passant qu'ici encore l'animal est mort en pleine poussée des agglutinines.

L'antigène paraît donc avoir agi chez cet animal en *retardant l'action ultérieure du vaccin acétone* dans la création d'anticorps.

Le traitement successif, puis simultané, subi par Y₁ nous conduit à des conclusions analogues : la 2^e agglutination est totale au 1/50, l'animal ayant reçu 2 cc. de vaccin acétone en 37 jours. Pendant le même temps X (qui avait reçu il est vrai 2 cc. 50 de vaccin) montait déjà au 1/80, et Z, dont le traitement à l'antigène était moins intensif (2 cc. 10 en 32 jours au lieu de 5 cc. en 20 jours) mais plus brutal au vaccin acétone (2 cc. 50 en 26 jours au lieu de 2 cc. en 37 jours), présentait une agglutination stationnaire (2^e agglutination).

La 3^e agglutination de Y₁ (totale au 1/80) correspond à un traitement total de 4 cc. de vaccin acétone en 63 jours. C₁, ayant reçu le même volume en (49 jours seulement), montait au 1/110^e. Ce mode de traitement paraît donc *freiner l'action du vaccin acétone* en donnant une formation d'agglutinines plus lente et plus régulière et *semble augmenter la tolérance de l'animal* pour ce vaccin. En effet, contrairement aux cas étudiés jusqu'ici, le lapin supporte fort bien son traitement ainsi qu'en témoignent sa courbe de poids et son autopsie au bout de 83 jours de traitement, l'animal ayant été sacrifié en parfaite santé.

3^o) Il nous paraît intéressant de **comparer l'évolution du lapin C₁ à celle de X** après traitement de ce dernier à l'extrait trichloracétique.

Nous avons vu en effet que le court traitement à l'antigène méthylique effectué sur C₁ ne paraissait pas avoir eu d'influence sur le pouvoir agglutinant de son sérum et que les variations du taux de ses agglutinines étaient comparables à celles de X. Il peut donc jouer le rôle de témoin vis-à-vis de ce dernier.

La comparaison des réactions à l'autopsie (ils ont reçu tous deux le même volume de vaccin) montre chez C₁ un fléchissement du taux d'agglutination (totale au 1/60 au lieu de 1/110 26 jours auparavant) alors que chez X le taux est maximum. Ceci est donc *favorable au traitement par l'antigène trichloracétique* qui semblerait aider la formation des agglutinines.

TROISIÈME PARTIE

ÉTUDE DES FORMULES LEUCOCYTAIRES

Nous réunissons dans les tableaux suivants les quelques résultats obtenus au cours des traitements précédents :

A) LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX (1)

1^o) *Traitement progressif.*

		18 avril	1 ^{er} mai	9 mai	19 mai
X	P	46	27	34	56
	L	51	62	57	43
	M	3	11	9	1
	R	17	5,6	6,3	43
H ₁	P	62			
	L	33			
	M	5			
	R	6,6			
H ₂	P	48			
	L	47			
	M	5			
	R	9,4			

(1) Rappelons que le traitement de X est commencé depuis le 19 mars et ceux de H₁ et H₂ le 13 avril seulement ; ces deux derniers ont donc reçu seulement une injection de 0 c.c 10 avant la prise de sang qui a servi à l'établissement de leur formule.

2^o) *Traitement intensif.*

Les animaux sont traités à partir du 13 mai.

		3 juin	18 juin	26 juin	10 juillet
I	P	39			
	L	36			
	M	5			
	R	11,2			
II	P	56	56	43	13
	L	47	41	50	15
	M	1	3	7	72
	R	47	13,6	7,1	0,2

B) LAPINS TRAITÉS PAR L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ.

Le lapin Z₂ mis en traitement le 13 avril a reçu 0 cc. 10 d'antigène avant l'établissement de sa formule :

$$\begin{aligned}
 Z_2 : 18 \text{ avril} : P &= 50 \\
 &L = 48 \\
 &M = 2 \\
 &R = 24
 \end{aligned}$$

C) LAPINS TRAITÉS PAR LE VACCIN ACÉTONE AQUEUX ET L'ANTIGÈNE MÉTHYLIQUE DILUÉ

		18 avril	19 mai	
C ₁	P	34		
	L	64		
	M	2		
	R	32		
Z	P	60	52	
	L	34	43	
	M	6	5	
	R	5,6	8,6	
		11 juillet	21 août	15 septembre
Y ₁	P	46	33	37
	L	50	38	60
	M	4	29	3
	R	12,5	1,3	20

Rappelons que le traitement de C a débuté le 24 février

par des injections d'antigène méthylique d'abord, puis de vaccin acétone à partir du 7 mars. Z a reçu l'antigène du 7 mars au 22 avril, puis du vaccin acétone. Y₁ a reçu jusqu'au 11 juillet l'antigène seul, puis du vaccin acétone jusqu'au 21 août, et un traitement combiné avec deux vaccins jusqu'au 15 septembre, date où il est sacrifié.

Conclusions.

L'examen de ces formules nous permet de constater d'abord la forte teneur *en polynucléaires* au début du traitement aussi bien dans le cas du **vaccin acétone** que de l'**antigène méthylique** ; il arrive même très fréquemment que le taux des polynucléaires soit supérieur à celui des lymphocytes (H₁, H₂, II, Z₂ Z,).

On assiste ensuite pour le traitement par le **vaccin acétone aqueux** (lapin X) à une chute des polynucléaires accompagnée d'une *mononucléose marquée*, qui se manifeste par une augmentation du taux des lymphocytes et des monocytes avec *diminution du rapport* $\frac{L}{M}$. Chez les animaux traités par des doses plus fortes (II), le taux des polynucléaires se maintient très élevé pendant une longue période et sa chute est ensuite plus faible.

Le rapport $\frac{L}{M}$ est d'abord très élevé, mais ne tarde pas à reprendre une valeur normale.

Chez le lapin X aussitôt après le traitement à l'extrait trichloracétique une *augmentation du taux des polynucléaires* s'ébauche, et, à la mort de l'animal, ce taux est très élevé, dépassant celui des lymphocytes qui a subi une évolution en sens inverse.

Le taux des monocytes a aussi fortement décru, de sorte que, à la mort, le rapport atteint une valeur maxima.

Le lapin II nous montre que dans le cas de l'**extrait acétonique**, le taux des *polynucléaires* tombe brusquement ainsi que

celui des lymphocytes. Par contre les *monocytes* subissent une *forte ascension* et à la mort le rapport est inversé et inférieur à l'unité. Cette action est particulièrement frappante et, en une dizaine de jours, transforme complètement la formule qui, le 26 juin, avant ce traitement, était à peu près normale et correspondait au stade de stabilisation de l'animal, obtenu après diminution des doses et même arrêt du traitement au vaccin acétone, dont l'effet nocif était manifeste.

Pour le traitement à l'**antigène méthylique**, il est difficile de conclure, car nous ne disposons que d'un seul résultat. Nous nous bornerons donc à signaler la *forte proportion des polynucléaires* par rapport aux lymphocytes et la valeur *élevée du rapport* $\frac{L}{M}$ après une seule injection de 0 cc. 10 d'antigène méthylique dilué. Une remarque analogue a été faite pour le vaccin acétone aqueux.

Quant au **traitement mixte**, nous constatons que **C₁** qui a reçu très peu d'antigène, présente au bout de 40 jours de traitement une formule analogue à celle de X vers la même période : forte proportion de lymphocytes et rapport $\frac{L}{M}$ très élevé.

Pour Z au contraire, les polynucléaires dominent toujours, bien que le taux des lymphocytes ait présenté un léger accroissement, de même que le rapport $\frac{L}{M}$ du reste.

Quant à Y₁, sa formule après traitement à l'antigène, présente le type à polynucléaires nombreux et à rapport élevé, que nous avons déjà observé dans les débuts de traitement.

Après les injections de vaccin acétone, un changement apparaît sous forme d'une brusque poussée monocyttaire qui entraîne une très forte baisse du rapport $\frac{L}{M}$. En fin de traitement, quand l'animal est sacrifié, la monocytose a fait place à la *lymphocytose* et le *rapport devient très élevé*, le taux des *polynucléaires restant normal*. Cette dernière formule traduit un état de résistance très net chez l'animal, en accord avec

les résultats que nous avons obtenus par ailleurs (pcisée, agglutination).

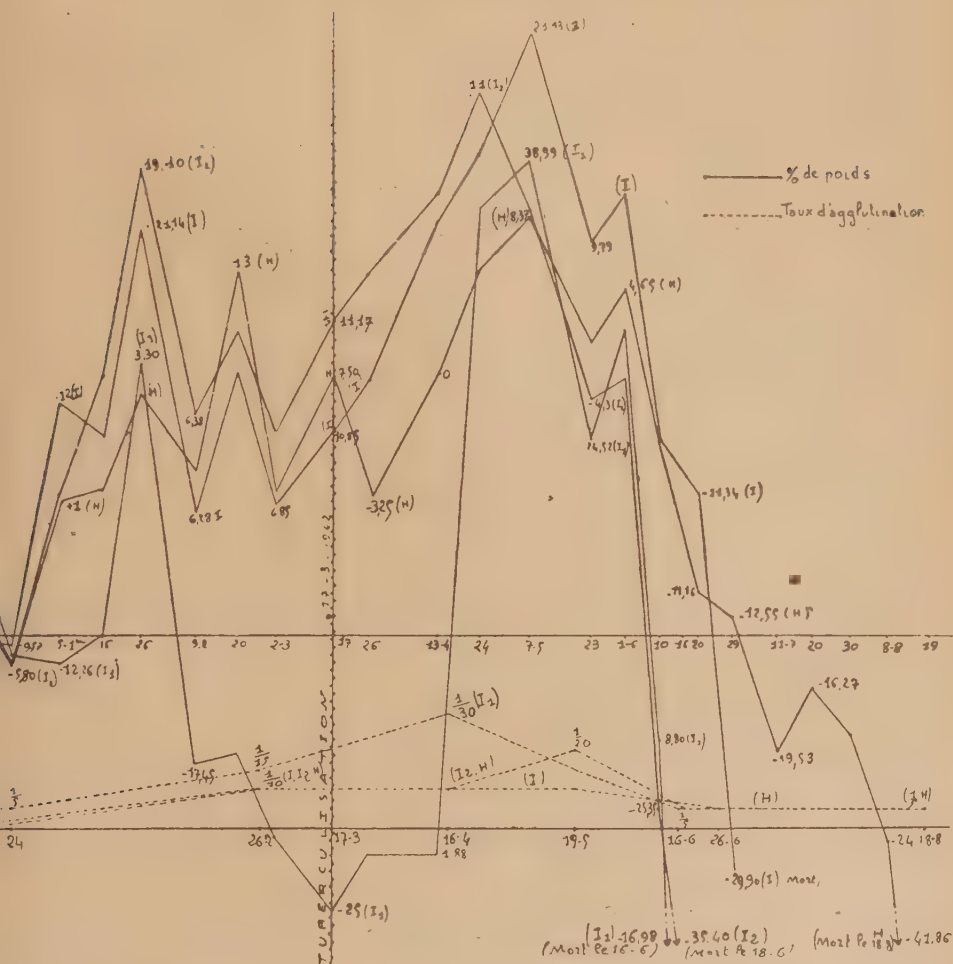
En somme, dans l'ensemble ces résultats expriment l'effet *toxique* de nos vaccins, effet qui se traduit par une *polynucléose* chez la plupart de nos animaux, polynucléose fréquemment suivie de mort à brève échéance.

D'autre part chez les animaux qui ont résisté et qui ont subi d'autres traitements au moment où ils paraissent stabilisés (nous constatons que cette période coïncide avec des formules redevenues à peu près normales) l'action *de l'extrait trichloracétique* se traduit par une polynucléose intense à la mort de l'animal, et un rapport élevé par suite de la chute des monocytes.

Au contraire, l'*extrait acétonique* provoque la chute des polynucléaires, et une forte poussée monocyttaire entraînant 'inversion du rapport $\frac{L}{M}$.

Enfin contrairement aux précédents, le traitement mixte subi par Y₁ semble donner des *résultats satisfaisants* et paraît bien toléré par l'animal.

Poids et Agglutinines

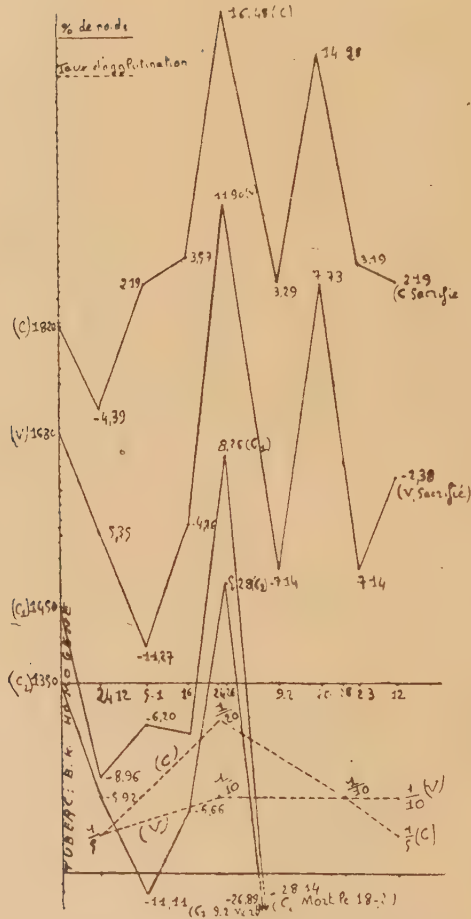


Lapins traités préventivement par le vaccin huileux complet :

par voie intraveineuse : $I - I_1$;

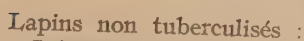
par voie sous-cutanée : I₁ - H.

Poids et Agglutinines



Lapins traités curativement par le vaccin huileux complet (tuberculisés par du bacille homogène) :

- par voie intraveineuse : C - V ;
- par voie sous-cutanée : C₁ - C₂.



Injections de vaccin acétone aqueux par voie sous-cutanée :

Traitement progressif : $X_2 - H_2 - Y$

Traitement intensif

» » + extrait acétonique : II

Injections d'antigène méthylique dilué par voie sous-cutanée :
 Traitement intensif : V

Injections d'antigène méthylique dilué et de vaccin acétone aqueux
 par voie sous-cutanée

Ci - Z (antigène : voie intraveineuse) - Y₁.

APPENDICE

REMARQUES AU SUJET

DE QUELQUES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES

En même temps que nous poursuivions sur des lapins des traitements au vaccin huileux complet (1), des réactions sérologiques sur *sérum humain* étaient effectuées avec ce même vaccin pour compléter son étude et essayer de mettre en lumière sa composition.

Nous avons pu constater en effet, au cours des traitements vaccinaux, que des injections répétées de vaccin provoquaient une augmentation du taux d'agglutination, légère le plus souvent, mais cependant très nette chez certains sujets : c'est ainsi que deux d'entre eux, I₁ (vaccination par voie intra-veineuse) et H (vaccination par voie sous-cutanée) ont vu leur taux d'agglutination totale, primitivement de 1/5 à peine, passer à 1/15 en 72 jours de traitement ; une agglutination partielle était encore visible à des dilutions assez élevées (au 1/60 pour I₁).

Ce vaccin apparaît donc comme possédant un certain *pouvoir antigénique*, susceptible de provoquer la formation d'anticorps dans le sérum d'animaux traités. C'est pourquoi il nous a paru intéressant de mettre en contact in vitro notre vaccin avec un sérum contenant des anticorps tuberculeux et de voir ce que devient, après ce traitement, le pouvoir agglutinant de ce sérum vis-à-vis du bacille tuberculeux.

(1) Rappelons que nous désignons par ce terme une dilution à taux déterminé, dans de l'huile-lanoline stérile, de l'extrait de bacille homogène obtenu selon une technique exposée dans notre premier chapitre. La dilution utilisée correspond à 100 millions de bacilles par centimètre cube.

Nous avons utilisé pour cela le sérum de certains malades, tuberculeux avérés, à divers stades de la maladie ; les mêmes recherches étaient aussi effectuées sur du sérum d'individu normal, enfin chaque réaction effectuée sur l'huile-vaccin, était accompagnée d'une réaction-témoin sur l'huile-lanoline vierge.

La **technique** suivie a été la suivante :

Le sang, prélevé par ponction veineuse au pli du coude, est aussitôt porté à la glacière où il séjourne un certain temps pour permettre au sérum d'exsuder. Celui-ci est recueilli avec une pipette stérile, centrifugé si besoin est. Il doit être parfaitement limpide, car son opalescence a rendu parfois la lecture de la réaction très difficile, c'est pourquoi nous avons été amenée par la suite à prélever le sang sur le sujet à jeun.

Quand le sérum est prêt, une **réaction d'agglutination préliminaire** est effectuée à l'aide d'une émulsion à 40 millions de bacilles homogènes par centimètre cube, selon la méthode habituelle, pour nous renseigner sur sa richesse en agglutinines et déterminer dans quel domaine de la gamme de dilution il convient d'opérer.

Dans deux petits tubes coniques on introduit ensuite 2 cc. de sérum ; on ajoute dans le premier 1 cc. d'huile-vaccin, et dans le second 1 cc. d'huile-lanoline vierge ; les deux tubes, hermétiquement bouchés au liège, sont abandonnés quelques heures à la glacière. On constate alors la présence d'un abondant précipité blanchâtre à la surface de séparation des deux liquides ; on agite énergiquement les tubes de façon à réaliser un mélange intime entre le sérum et l'huile, et l'on obtient ainsi une émulsion opalescente qui se détruit d'ailleurs assez rapidement.

Cette opération est renouvelée à trois reprises, à intervalles égaux au cours de 24 heures, les tubes étant entre-temps abandonnés à la glacière ; on constate que le mélange devient de plus en plus épais, et l'émulsion de plus en plus stable, sans doute par suite de l'abondance du précipité qui, après séparation, se trouve en suspension dans l'huile aussi bien que dans le sérum.

Après repos, au bout de 24 heures, le sérum (situé à la partie inférieure) est recueilli à l'aide d'une pipette très fine, en évitant le plus possible d'entraîner de l'huile. On rejette d'ailleurs les 2 ou 3 premières gouttes qui s'écoulent, et la pipette est soigneusement essuyée à l'aide d'un papier-filtre stérile, avant de recevoir le sérum prélevé dans un tube à hémolyse.

Une centrifugation prolongée est ensuite effectuée pour séparer le précipité qui donne un aspect trouble au liquide et qui se trouve après cette opération rassemblé à la surface en un abondant dépôt blanchâtre. On recueille à nouveau le liquide à la partie inférieure à l'aide d'une fine pipette en évitant d'entraîner le précipité, et sur ce sérum limpide on pratique à nouveau une agglutination. On opère ainsi sur les deux fractions de sérum agitées respectivement avec l'huile-vaccin et l'huile vierge, et une 3^e agglutination est effectuée sur du sérum primitif intact conservé à la glacière. On compare le lendemain les trois résultats.

Les sérums tuberculeux étudiés ont été prélevés sur des malades hospitalisés dans les Cliniques Saint-Eloi (pavillon Laënnec) ou au Sanatorium de Bon-Accueil.

Dans notre exposé nous noterons par les lettres S, SH, SHV les résultats des trois agglutinations effectuées simultanément, et correspondant respectivement au sérum pur, au sérum agité avec de l'huile-lanoline, et au sérum agité avec l'huile-vaccin.

a) SÉRUM NON TUBERCULEUX TÉMOIN.

L'agglutination préliminaire n'a pu être effectuée.

Dilutions	S	SH	SHV
1/5	+ + + + —	+ + + — —	+ + + + +
1/10	+ + + — —	+ + — — —	+ + + + —
1/15	+ + + — —	+ — — — —	+ + + — —
1/20	+ + — — —	+ — — — —	+ + — — —
1/30	+ — — — —		+ + — — —
1/40			+ — — — —
1/70			+ — — — —

b) SÉRUMS TUBERCULEUX.

Sérum n° 1

L'agglutination préliminaire n'a pu être effectuée.

Dilutions	S	SH	SHV
1/5	+ + + — —	+ + + — —	+ + + + +
1/10	+ — — — —	+ — — — —	+ + + — —
1/15			+ — — — —
1/20			
1/30			
1/40	+ — — — —	+ — — — —	+ — — — —

Sérum n° 2

Dilutions	Agg. préliminaire	Agglutination après agitation		
		S	SH	SHV
1/5	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +
1/10	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + +
1/15	+ + + — —	+ + + + —	+ + + + —	+ + + — —
1/20	+ + — — —	+ + + — —	+ + + — —	+ + — — —
1/30	+ — — — —	+ + + — —	+ — — — —	+ — — — —
1/40	0	+ + — — —	0	0
1/50		+ — — — —		
1/60		0		

Sérum n° 3

Dilutions	Agg. préliminaire	Agglutination après agitation		
		S	SH	SHV
1/5	+ + + + —	+ + + + +	+ + + + +	+ + + + —
1/10	+ + + — —	+ + + — —	+ + + — —	+ + + — —
1/15	+ — — — —	+ — — — —	+ + — — —	+ — — — —
1/20			+ + — — —	
1/30			+ — — — —	
1/40				
1/50			+ — — — —	+ — — — —
1/60		+ — — — —	0	0

Sérum n° 4 (I)

Dilutions	Agg. préliminaire	Agglutination après agitation	
		SH	SHV
1/5		+ + + — —	+ + — — —
1/10		+ + — — —	+ — — — —
1/15		+ — — — —	

(1) L'agglutination préliminaire et l'agglutination sur sérum « S » n'ont pu être effectuées pour des raisons indépendantes de notre volonté.

Sérum n° 5

Cette recherche, effectuée sur un sérum prélevé sur un malade hospitalisé au pavillon Lanëc, a été entièrement négative, aussi bien pour l'essai préliminaire que pour les agglutinations suivantes ; l'agglutination n'était même pas sensible au 1/5.

Les *conclusions* que l'on peut retirer de ces quelques résultats sont assez imprécises par suite du petit nombre de sérums étudiés et du manque de netteté des réactions observées. lesquelles sont, pour la plupart, négatives ou légèrement positives. Nous pouvons toutefois signaler que la seconde agglutination sur sérum pur, effectuée 24 heures après l'obtention du sérum, est, de façon constante, légèrement plus poussée que l'agglutination préliminaire.

L'agitation avec le mélange huileux provoque une altération réelle dans les résultats de cette réaction, altération qui se traduit tantôt par une régression de l'agglutination, tantôt par une intensification.

Si nous examinons les valeurs obtenues, nous constatons qu'après agitation avec l'huile-lanoline pure l'agglutination reste stationnaire (sérum n° 1), ou présente une régression (sérum témoin, sérum n° 2). Pour le sérum n° 3, le résultat est douteux, l'agglutination peut être considérée comme ayant tendance à croître.

L'huile-vaccin provoque aussi parfois une réaction plus forte (sérum témoin, sérum n° 1), parfois aussi stationnaire (sérum n° 3), ou légèrement en décroissance (sérums n°s 2 et 4). Ces résultats sont donc très variables et ne permettent pas de dégager une indication quelconque sur les oscillations de la séro-agglutination. Ils tendent à indiquer toutefois que l'huile vierge est capable d'adsorber à un faible degré, il est vrai, des anticorps, et son activité est d'une intensité comparable à celle de l'huile-vaccin.

Le mélange huile-lanoline pur ou contenant en dissolution certains principes bacillaires semble donc exercer une certaine action sur la teneur en agglutinines du sérum mis à son

contact ; nos résultats ne nous permettent pas de préciser cette action ; nous n'avons voulu que les signaler. Cette étude demanderait, à notre avis, à être approfondie sur un matériel plus précis et sur une plus vaste échelle.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous réunissons ici l'ensemble des résultats obtenus au cours des divers traitements effectués. Rappelons que ces recherches ont porté principalement sur trois vaccins, vaccin huileux complet, vaccin huileux acétone et vaccin acétone aqueux, que nous avons préparés à partir d'émulsions de bacilles homogènes provenant de cultures âgées de 48 heures.

Nous avons utilisé les produits d'extraction de ces bacilles par de l'huile d'olive lanolinée, après contact prolongé à l'autoclave à 120°, cette opération a porté tantôt sur des bacilles entiers (vaccin huileux complet), tantôt sur des bacilles délipidés par traitements répétés à l'acétone (vaccin huileux acétone).

D'autre part, notre étude a porté sur des vaccins aqueux : émulsion en sérum physiologique de bacilles tués par la chaleur (à 110°, pendant 10 minutes), partiellement délipidés par l'acétone (vaccin acétone aqueux) et, enfin, un vaccin aqueux contenant les produits extraits par l'alcool méthylique selon la méthode de NÈGRE et BOQUET, et que nous employons tel qu'il est livré par l'Institut Pasteur, sous le nom d'Antigène méthylique dilué.

Enfin sur les lapins préparés par ces derniers traitements, nous avons fait l'essai de divers extraits bacillaires préparés aux Laboratoires de M. le Professeur HOLLANDE :

1°) Extrait après précipitation par l'acide trichloracétique (1) selon une méthode inspirée de celle de Boivin ;

(1) La préparation détaillée de cet extrait, effectuée par Monsieur BESSIÈRE, chef de Travaux délégué de Microbiologie, sera donnée prochainement dans sa thèse de Doctorat d'État en Pharmacie.

2^o) Extrait acétonique de bacille homogène.

Voici les conclusions auxquelles nous ont conduites ces diverses recherches :

Vaccins huileux.

Vaccin huileux complet : Ce vaccin, employé préventivement, le traitement étant poursuivi après tuberculisation, n'a pas empêché l'infestation de l'organisme par les germes tuberculeux ; tous les animaux traités ont succombé après un temps variable, plus ou moins cachectiques, et leur autopsie a révélé chez tous, une atteinte très nette de divers organes : les poumons, plus ou moins hypertrophiés, présentent de nombreuses lésions, plus ou moins confluentes ; d'autres lésions, de taille et de forme variables, sont assez souvent observées sur la rate et les reins ; le foie est rarement atteint.

Cependant, à la faveur de notre traitement nous pouvons noter les faits suivants :

La *survie* des animaux traités est en moyenne un peu supérieure à celle des témoins ; elle a dépassé 5 mois chez un sujet traité par voie sous-cutanée (lapin H) et qui avait reçu après tuberculisation de fortes doses de vaccin.

Les *pesées* sont nettement favorables à notre traitement : après la chute initiale, le poids remonte régulièrement, puis subit une légère décrue bientôt suivie de relevée. A la tuberculisation, les poids chez presque tous les animaux traités sont supérieurs aux poids initiaux et la tuberculisation ne paraît pas arrêter cette ascension, alors que les témoins subissent une chute nette qui, chez deux d'entre eux, se poursuit régulièrement jusqu'à la mort ; les deux autres présentent bien une relevée, mais l'augmentation est faible, et la chute, qui a lieu environ deux mois après la tuberculisation, est rapide et bientôt suivie de mort.

Les animaux traités atteignent au contraire un poids maximum élevé, la chute est ensuite assez lente si l'on excepte la période qui précède immédiatement la mort ; chez l'un d'entre eux, H, cette chute est particulièrement lente, coupée de paliers et même de tentatives de relevées,

L'autopsie elle-même, si elle révèle des organes nettement atteints, nous montre une tendance à la localisation et à la sclérose des lésions, que nous n'avions pas relevées chez les témoins.

La réaction d'agglutination ne démontre qu'un léger pouvoir antigénique, le taux des agglutinines s'accroît légèrement au cours du traitement préventif (réaction totale au 1/10, 1/15) et continue à augmenter aussitôt après la tuberculisation, sans présenter de chute sensible ; un mois après, les maxima relevés sont de l'ordre du 1/30, 1/40, et ne dépassent guère les valeurs obtenues parfois chez certains témoins, dont la plupart n'agglutinent qu'à 1/15 au maximum.

Ce vaccin essayé d'ailleurs in vitro, sur du sérum tuberculeux d'origine humaine, ne paraît pas altérer considérablement le taux d'agglutination, ou tout au moins son action est assez irrégulière et ne paraît guère plus intense que celle de l'excipient seul, qui provoque des variations assez confuses de ce taux et dont il ne nous a pas été possible de dégager les indications.

Quant à la formule leucocytaire, bien que les fluctuations en soient assez confuses et que l'on n'observe pas de variations très nettes dans la période qui suit la tuberculisation, nous pouvons cependant noter, au moment de la mort, des phénomènes déjà observés : augmentation des polynucléaires et des monocytes, chutes des lymphocytes et par conséquent chute du rapport lymphomonocytaire qui parfois même est inversé. Seul le lapin H, ici encore, ne suit pas la loi commune et sa mort, à l'inverse des autres, est marquée par une forte valeur du taux des lymphocytes et par la diminution des polynucléaires et des monocytes, avec un rapport $\frac{L}{M}$ maximum.

Il est possible que le comportement spécial de cet animal, qui le distingue nettement des autres dans tous les domaines, soit dû à sa résistance particulière, à moins que l'on ne puisse attribuer une certaine influence au traitement dont il a seul été l'objet, consistant en doses croissantes, très fortes, de vaccin (jusqu'à un centimètre cube par injection) maintenues jusqu'à sa mort.

Le *traitement curatif* à l'aide de ce vaccin, après tuberculisation par le bacille homogène, a été diversement supporté par les sujets d'expérience. Ceux qui ont reçu les injections sous-cutanées sont morts après un amaigrissement progressif ; par contre, la voie intraveineuse nous a paru nettement plus favorable, et les animaux ont dû être sacrifiés en pleine santé.

Chez tous, nous avons constaté à l'*autopsie* le bon état des organes ; ce vaccin n'a donc pas permis au bacille homogène de retrouver sa virulence ; celle-ci n'a pu tout au moins se manifester par des lésions apparentes sur les divers viscères.

Les *taux d'agglutination* semblent être dans l'ensemble quelque peu inférieurs à ceux des lapins traités préventivement.

Quant à la *formule leucocytaire*, elle est caractérisée surtout par la valeur élevée du taux des polynucléaires, valeur qui augmente au cours du traitement et se maintient jusqu'à la mort ; le taux des lymphocytes a dans l'ensemble tendance à décroître et parfois, à la mort, devient inférieur à celui des polynucléaires ; mais, contrairement à la série préventive, nous constatons ici, en général, une chute des monocytes à la fin de l'évolution, se traduisant le plus souvent par une augmentation, au moment de la mort, du rapport lymphomonocytaire. Ce résultat, assez inattendu, est vérifié chez trois lapins sur quatre.

Vaccin huileux acétone : Quant au traitement curatif par le vaccin huileux acétone, bien que les déductions que nous puissions tirer soient nécessairement incertaines, car nous n'avons disposé que d'un seul lapin, mort prématurément, il nous paraît à première vue assez favorable à l'animal ; celui-ci n'a présenté en effet à l'autopsie qu'une minuscule lésion douteuse sur un poumon, alors qu'un témoin, mort à peu près au même moment, avait déjà les poumons nettement envahis et une rate déformée par les lésions. Le taux d'agglutination n'a subi, ici encore, qu'une faible augmentation (agglutination totale au 1/15) et la formule leucocytaire n'a pas présenté de variations sensibles.

Vaccins aqueux.

Vaccin acétone aqueux : Des multiples essais de traitement entrepris, nous pouvons dégager les faits suivants : Ce vaccin, aux doses employées, s'est montré éminemment toxique et a provoqué, au bout d'un temps variable, un amaigrissement plus ou moins rapide, aboutissant à la mort de l'animal ; l'effet est plus ou moins brutal selon les doses et l'on a pu avec des doses massives provoquer la mort rapide d'un animal de poids élevé avant même qu'il ait pu devenir cachectique.

D'autre part, ce vaccin est capable de créer des agglutinines (agglutination à 1/100, au minimum, pour le lapin X) dans le sérum des animaux traités, lorsque ces derniers peuvent résister un certain temps ; les doses faibles (lapin X : 160 millions) sont nettement plus favorables que les fortes, (280 millions chez le lapin II) pour lesquelles le taux obtenu (1/30 au maximum) n'est jamais très élevé. Il semble d'ailleurs qu'un vaccin fraîchement préparé soit plus actif que lorsqu'il a été conservé quelques mois à la glacière ; le taux des agglutinines qu'il fait naître devient plus faible au fur et à mesure du vieillissement en même temps que la toxicité semble augmenter.

Remarquons d'ailleurs que la mort dans ce cas ne semble pas influencer dans l'ensemble sur le taux d'agglutination qui présente parfois une courbe ascendante jusqu'au bout (lapin X), ou qui, tout au moins, conserve une valeur assez élevée à la mort (C_I : agglut. totale 1/60).

Sur ces animaux nous constatons aussi l'*action toxique* des extraits essayés aux doses employées, fortes, il est vrai : *extraits trichloracétique* et *extrait acétonique* qui accélèrent l'amaigrissement de l'animal et précipitent l'issue fatale, résultats particulièrement sensibles pour le second.

Au point de vue antigénique au contraire, leur action semble différente : l'extrait trichloracétique paraît renforcer la formation des agglutinines (le lapin X meurt avec un taux maximum, contrairement à son témoin C_I qui, à la mort, présente une certaine chute de ce taux).

Chez II par contre, les injections d'extrait acétonique sont

immédiatement suivies d'une chute brusque et totale de l'agglutination, la réaction devient négative à la mort de l'animal qui survient le dixième jour après ce traitement.

Il nous est difficile de suivre l'effet du vaccin acétone sur la formule leucocytaire, car la mort rapide des animaux ne nous a pas permis d'obtenir plusieurs résultats ; nous pouvons noter cependant la valeur élevée du taux des polynucléaires (au début du traitement tout au moins) ainsi que du rapport $\frac{L}{M}$, ce que nous constatons d'ailleurs aussi chez les animaux traités par l'antigène méthylique.

Les traitements par les extraits trichloracétique et acétonique conduisent, ici encore, à des résultats opposés : le premier provoque une polynucléose intense alors que le taux des monocytes s'abaisse à l'unité, donnant ainsi un rapport lymphomonocytaire une valeur très élevée à la mort de l'animal.

Pour le second au contraire, ce traitement est immédiatement suivi d'une diminution brutale des polynucléaires et des lymphocytes (de 43 à 13 et 50 à 15 respectivement), alors que la monocytose devient intense (72) ; le rapport $\frac{L}{M}$ devient ainsi, très faible et nettement inférieur à l'unité quand l'animal succombe.

Antigène méthylique dilué : Cet extrait paraît assez bien supporté par les animaux, mais se révèle incapable de faire croître de façon nettement appréciable le taux d'agglutination, même en employant des doses importantes. Ces conclusions s'opposent donc à celles de Mlle GUERRE (*Thèse de Doctorat en Pharmacie, Montpellier, 1940*) qui a fait précéder, il est vrai, son traitement d'une injection intradermique de bacilles virulents, ce qui est la cause, sans doute, des taux très élevés obtenus par elle.

Ce résultat négatif nous a donc conduit à cesser ces injections et à continuer la préparation des animaux par du vaccin acétone aqueux, et même à essayer un traitement mixte, alterné puis simultané avec ces deux vaccins.

Vaccin acétone aqueux et antigène méthylique dilué associés :
Lorsque le traitement à l'antigène est interrompu et remplacé par des injections de vaccin acétone aqueux, nous assistons à une poussée d'anticorps très nette si le traitement à l'antigène a été assez court ; le vaccin acétone agit alors comme s'il était seul (lapin C₁). Par contre, si le premier traitement a été assez prolongé, il paraît retarder l'action du traitement ultérieur : la croissance du taux d'anticorps se fait plus lentement, et est interrompue par la mort de l'animal qui, ici encore, ne se traduit pas par la chute de l'agglutination se produisant d'ordinaire à ce moment. Par contre la toxicité du vaccin acétone est toujours sensible, les animaux traités finissant toujours par mourir cachectiques.

Enfin le traitement mixte spécial essayé sur le lapin Y₁. (consistant en injections massives croissantes d'antigène, suivies d'injections croissantes de vaccin acétone, puis d'un traitement mixte avec les mêmes doses d'antigène que dans la première phase, accompagnées d'une dose fixe et élevée de vaccin acétone) s'est révélé par contre nettement favorable.

Ici encore, l'antigène méthylique paraît agir en retardant l'action du vaccin acétone dans sa création d'anticorps ; le taux d'agglutination augmente cependant, mais lentement et très régulièrement. Par contre la toxicité de ce second vaccin semble être neutralisée, l'animal supporte très bien son traitement, même lorsqu'il reçoit les doses fortes de vaccin acétone (0 cc. 50) ; son poids augmente régulièrement (après une certaine chute aux premières injections de vaccin acétone) et est maximum quand il est sacrifié. A l'autopsie l'animal est gras, ses organes sont parfaitement sains.

La formule leucocytaire montre à ce moment une lymphocytose très nette traduisant un état de résistance de l'animal.

Le taux des monocytes est faible, le rapport $\frac{L}{M}$ est élevé, le taux de polynucléaires a une valeur normale (1).

(1) Il nous paraît intéressant de rapprocher ces résultats de ceux

Tous ces résultats semblent donc concorder en faveur de ce dernier traitement ; toutefois dans ce cas, comme dans la plupart des précédents, nous devons tenir compte du petit nombre des animaux traités, les résultats obtenus n'étant que des indications qui demanderaient à être contrôlées sur un plus grand nombre de sujets d'expérience.

obtenus pour le lapin X qui reçoit en même temps que le vaccin acétone aqueux, l'extrait trichloracétique : nous assistons aussi à un accroissement net du taux des agglutinines, mais ici une certaine toxicité semble se manifester, par la chute régulière du poids qui se poursuit jusqu'à la mort. D'autre part, à cette date, la formule leucocytaire révèle un rapport $\frac{I}{M}$ très élevé, comme chez Y_1 , mais par contre le taux des polynucléaires, voisin de la moyenne pour Y_1 , est ici anormalement élevé (56 %).

BIBLIOGRAPHIE

1931. ALBERT-WEIL (J.). — Les poisons du bacille tuberculeux et les réactions cellulaires et humorales dans la tuberculose. Esquisse d'une conception nouvelle des processus pathogéniques de la tuberculose. (J.-B. Baillière et Fils, éd., Paris.)
1930. ALBERT-WEIL (J.) et LE GUYON (R.-F.). — Réactions cellulaires du cobaye sain et du cobaye tuberculeux après injection d'antigène méthylique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. III, t. 105, p. 981.)
1935. ANDERSON (R.-J.), SHOENHEIMER (R.), CROWDER (J.-A.) et STODOLA (F.-H.). — Die chemie der Tuberkelbazillen-Lipoïde. Über das Vorkommen von sterinen in tuberkelbazillen. (*Zeits f. Physiol. Chem.*, 1935, t. CCXXXVII, p. 40.)
1936. ARENA (A.-R.) et SCHWARTZ (R.). — Pouvoir activant de l'extrait acétonique du bacille tuberculeux sur l'infection tuberculeuse expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 123, p. 706.)
1913. ALROING (F.). — Sur la vaccination antituberculeuse des bovidés. Méthode de S. Arloing. Bases scientifiques. Techniques. Résultats. (*Journal de Méd. Vétér.*, 1913, 31 octobre.)
1898. ALROING (S.) et COURMONT (P.). — Recherche et valeur clinique de l'agglutination du bacille tuberculeux par le sérum sanguin de l'homme. (*C. R. Acad. Sciences*, 19 septembre 1898.)
1924. ARMAND-DEILLE (P.), DUHAMEL (G.) et MARTY (P.). — Étude de l'influence d'injections d'antigène méthylique sur la teneur du sérum en anticorps chez les enfants tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, t. I, t. 90, p. 936.)
- 1907. AUCLAIR (J.) et PARIS (L.). — Constitution chimique du bacille tuberculeux et de sa matière unissante. Ses rapports avec l'acido-résistance. (*C. R. Acad. Sciences*, 4 février 1907, t. CXLIX, pp. 278-281.)

1933. AUGUSTE (C.). — Apparition ou augmentation des anticorps décelables dans certains sérums tuberculeux au cours du vieillissement. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. III, t. 114, p. 267.)
1935. BABLET (J.), VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — Lésions histologiques consécutives à l'inoculation au lapin de bacilles acido-résistants isolés du cobaye neuf après traitement à l'extraît acétonique de bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 119, t. II, p. 936.)
1938. BALTEANU (J.), TOMA (A.) et GARAGULI (A.). — Les voies d'élimination de la tuberculine inoculée chez les cobayes tuberculeux, sa neutralisation par les organes internes. Absence de tuberculine dans les tissus caséeux, et les organes internes des cobayes tuberculeux, même cachectiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 127, pp. 1033-1039.)
1932. BEERENS (J.). — Mise en évidence in vivo du virus tuberculeux par les substances ciro-graisseuses du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1932, t. II, t. 110, p. 682.)
1933. — Mise en évidence du virus tuberculeux dans le sang par la méthode des injections d'extraît acétonique de bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 113, t. II, p. 696.)
1941. BERTHELOT (A.), NÈGRE (L.) et BRETEY (J.). — Inhibition par le succinate d'éthyle de l'action aggravante de l'huile d'olive sur la tuberculose du cobaye. (*C. R. Acad. Sciences*, t. 213, 16 juillet 1941, p. 90.)
1936. BOIVIN (A.). — Sur le comportement comparé des endotoxines et des exotoxines vis-à-vis de l'acide trichloracétique. (*C. R. Acad. Sciences*, t. CCIII, 1936, p. 284.)
1937. BOIVIN (A.) et IZARD (Y.). — Méthode pour la purification à l'acide trichloracétique des toxines et anatoxines diphtérique, tétanique et staphylococcique. (*C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIV, 1937, p. 25.)
1933. BOIVIN (A.), MESROBEANU (I.) et MESROBEANU (L.). — Technique pour la préparation des polyssacharides microbiens. (*Soc. Biol. Bucarest*, 6 avril 1933, in *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIII, p. 490.)
- 1938 a). BOIVIN (A.) et MESROBEANU (L.). — Sur l'action anti-infectieuse de l'anticorps 0 formé dans l'organisme en réponse à l'injection d'un antigène glucido-lipidique (antigène 0). (*C. R. Soc. Biol.*, t. 127, mars 1938, p. 755.)
- b). — Sur la spécificité qui se manifeste dans l'action immuni

- sante anti-infectieuse des antigènes glucido-lipidiques. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 128, mai 1938, p. 358.)
- c). — Les antigènes somatiques et flagellaires des bactéries. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. 61, octobre 1938, pp. 426-478.)
1937. BOQUET (A.) et LAPORTE (R.). — Essais de vaccination du cobaye contre la tuberculose au moyen de bacilles morts. (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, pp. 1159-1161.)
1904. BORREL (A.). — Bacilles tuberculeux et paratuberculeux. (*Bull. Inst. Pasteur*, t. II, 1904, pp. 409 et 505.)
1920. BOSSAN (E.-A.). — Procédé pour rendre un lapin exclusivement tuberculeux pulmonaire. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 10 janvier 1920, p. 7.)
1931. BOSWORTH (E.-B.). — The lymphocytic-monocytic ratio in experimental tuberculosis in guinea-pigs. (*Amer. Rev. of Tuberc.*, t. XXIII, mars 1931, pp. 318-324.)
1911. CALMETTE (A.). — L'immunisation artificielle active contre la tuberculose par des vaccins antituberculeux. (*Bull. Inst. Pasteur*, t. IX, n° 18, septembre 1911.)
- 1927-1936. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. (Masson et Cie, éd., Paris, 1927 et 1936.)
1905. CAMUS et PAGNIEZ. — Recherches sur les acides gras ; lésions expérimentales. Propriétés acido-résistantes des acides gras du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LIX, novembre et décembre 1905, pp. 386, 701, 703.)
1905. CANTACUZÈNE (J.). — Recherches sur la maladie expérimentale provoquée par l'inoculation de bacilles tuberculeux dégraissés. (*A.. Inst. Pasteur*, t. XIX, 25 novembre 1905, pp. 699-714.)
1929. CAUSSIMON (J.). — Action de l'antigène méthylique sur l'intoxication tuberculeuse expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, 1929, t. III, t. 102, p. 17.)
1939. CHOUCROUN (Mlle). — Sur un antigène sensibilisant extrait du bacille tuberculeux. (*C. R. Acad. Sciences*, t. 208, 30 mai 1939, p. 1757.)
- 1940 a). — Les lésions de la tuberculose peuvent être engendrées par une substance extraite du bacille. (*C. R. Acad. Sciences*, t. 210, 1^{er} avril 1940, pp. 512-513.)
- 1940 b). — Lésions tuberculeuses produites à distance par une substance chimique définie extraite du bacille. Premières

données sur la constitution de cette substance. (*C. R. Acad. Sciences*, t. 210, 27 mai 1940, pp. 749-750.)

1935. COULAUD (E.), DUGAS et NEUMAN. — Allergie durable obtenue chez le cobaye avec l'extrait chloroformique de bacille tuberculeux. (*Rev. Tuberc.*, n° 10, décembre 1935.)
1934. COULAUD (E.). — Etat allergique durable obtenu chez les animaux de laboratoire par injection sous-cutanée de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans la paraffine solide. (*Rev. Tuberc.*, 9 juin 1934, p. 830.)
- 1935 a). — Caractères de l'état allergique observé chez les animaux de laboratoire après injection de bacilles tuberculeux enrobés dans de l'huile de paraffine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. II, t. 119, p. 368.)
- b). — Caractères de l'immunité relative obtenue chez des animaux de laboratoire par injections de bacilles tuberculeux tués, enrobés dans la paraffine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. II, t. 119, p. 463.)
- c). — Essai de vaccination du cobaye et du lapin contre la tuberculose avec des bacilles tuberculeux morts, enrobés dans de la paraffine. (*Rev. Tuberc.*, n° 10, décembre 1935.)
1936. — Etude expérimentale des rapports entre allergie et immunité. (*Rev. Tuberc.*, t. 2, n° 10, décembre 1936.)
1938. — Allergie et immunité produite par les bacilles tuberculeux morts émulsionnés dans des huiles végétales. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. 61, n° 4, octobre 1938, pp. 358-393.)
1921. COURMONT (P.). — Comparaison des séro-réactions d'agglutination et de déviation du complément dans la tuberculose pulmonaire. (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. II, t. 85, p. 457.)
1933. — La séro-agglutination du bacille tuberculeux ; valeur sémiologique, diagnostique et pronostique. (*Journal médical franç.*, t. XXII, n° 5, mai 1933, p. 148.)
1925. COURMONT (P.) et MONZIOIS. — Comparaison des séro-réactions d'agglutination et de déviation du complément chez cent jeunes soldats suspects de tuberculose. (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, t. I, t. 92, p. 971.)
1938. DARZIUS (E.). — Recherches sur l'action de l'huile de lin et de chaulmoogra sur les bacilles acido-résistants et sur la tuberculose expérimentale du cobaye. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. 61, août 1938, pp. 172-186.)

1913. DEYCKE et MUCH. — Einiges über Tuberkulin und Tuberkulose immunität. (*Münch med. Woch.*, t. LX, 21 et 28 janvier 1913, pp. 119-190.)
1936. DOMANSKI (M.-A.). — Etude hématologique chez le lapin au cours de la tuberculose de type Versin. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 2, t. 122, p. 385.)
1923. DREYER (G.). — Some new principles in bacterial immunity; Their experimental foundation, and their applications to the treatment of refractory infections. (*British Journ. of Experim. Pathol.*, t. IV, 1923, pp. 146-176.)
1921. DULL (W.). — Zur Behandlung der Lungentuberkulose mit den Partialantigenen nach Deycke-Much. (*Deutsche mediz. Woch.*, 1921, p. 921)
1938. FETHKE (N.). — Constitution des substances lipoidiques du bacille tuberculeux et ses rapports avec l'infection bacillaire (*Thèse*, Fac Médecine Paris, 1938)
1934. FRANCIOLI (M.). — Ricerche sulla chimica del bacillo della tubercolosi Composti lipoidei del bacillo tuberculare (*Rendiconti R Ist. Lombardo Sc. e. Lett.*, t. XLVII, 1934, fasc. 14-15.)
1938. GRIMAL (R.). — Variations de la formule leucocytaire et du rapport lympho-monocytaire dans la tuberculose aiguë de la poule. (*C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 2, pp. 655-657.)
1920. GUIEYSSÉ-PELLISSIER (A.). — Absorption par le poulmon d'huile renfermant les produits de macération de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 24 juillet 1920, p. 1137.)
1939. HAEFLIGER (E.). — Vitesse de dispersion des bacilles tuberculeux inoculés en injections intracutanées dans l'organisme de cobayes préparés par des bacilles tués enrobés dans l'huile de vaseline. (*Zeitschr. Tub.*, t. 82, avril 1939, pp. 91-101.)
1931. HOLLANDE (A.-Ch.) et PENN (Mlle). — Tératocytes; cellules à noyaux monstrueux, observés dans le poulmon de cobayes et de lapins tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1931, t. II, t. 107, p. 142.)
1933. — Méthode de recherche des agglutinines et sensibilisatrices en présence d'un bacille tuberculeux émulsionnable. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. II, t. 113, p. 889.)
1921. HUSSEY (R.-G.). — General leucocytic response of the Guinea-pig during the reaction of artificial immunity in experimental tuberculous infection. (*Journ. of Exp. Medicine*, t. XXXIII, f. 3, pp. 337-348, mars 1921.)

1918. JACOBSON (J.). — Formule hémoleucocytaire dans la tuberculose expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXI, 1918, p. 232.)
1925. JULLIEN (L.). — Note sur les injections d'huile cholestérinée dans la tuberculose expérimentale du cobaye. (*Soc. Biol. Lyon*, 16 novembre 1925, in *C. R. Soc. Biol.*, t. 93, p. 1311.)
1920. KLEMPERER (F.). — Ueber einige neuere Behandlungsmethoden bei Lungentuberkulose (1. Proteinkörpertherapie. 2. Partigenbehandlung. 3. Friedmann's Tuberkulosemittel). (*Berlin Klin. Woch.*, 1920, p. 1065.)
1920. KLOPSTOCK (F.). — Zur Behandlung der Lungentuberkulose mit Partialantigenen nach Deycke-Much. (*Berlin Klin. Woch.*, 1920, p. 1115.)
1935. LAGRANGE (E. et M.-T.). — Sur la diversité d'action de la lanoline et du tapioca sur quelques germes pathogènes. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. III, t. 120, p. 390.)
1936. — Inoculation au cobaye de bacilles tuberculeux vivants incorporés à la lanoline ou au tapioca. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 121, p. 2575.)
1907. LAGRIFFOUL. — La vaccination antituberculeuse. (*C. R. Soc. Biol.*, 1907, t. LXII, p. 21.)
1939. LAPORTE (R.). — Fixation « in vivo » des bacilles tuberculeux ou paratuberculeux, morts ou vivants, au niveau des foyers contenant de l'huile de paraffine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 130, p. 1170.)
1936. LE CHUITON (F.), SABRAZES (J.), BERGE (Ch.) et PENNANEACH (J.). — Exaltation du pouvoir pathogène d'un bacille tuberculeux peu virulent, par action in vitro et in vivo d'extraits acétoniques, méthyliques et de tuberculine. (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 123, pp. 581-584.)
1907. LIGNIÈRES (J.). — La vaccination antituberculeuse à l'aide des émulsions huileuses de bacilles tuberculeux. (*Bull. Soc. Centr. Méd. Vét.*, 1907, t. LXXXIV, p. 488.)
1935. MACHEBŒUF (M.-A.). — Etude sur les antigènes fixateurs du bacille tuberculeux. Essais de purification et de fractionnement des fractions lipoidiques actives comme haptènes, extraites des bacilles tuberculeux tués par la chaleur. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. 60, n° 4, octobre 1935, pp. 433-440.)
1936. MACHEBŒUF (M.) et DIERYCH (J.). — Etudes biochimiques et immunologiques sur la tuberculose. Obtention d'un chimio-vaccin permettant de créer chez le lapin une immunité très

- manifeste vis-à-vis de l'infection tuberculeuse. (*C. R. Acad. Sc.*, janvier 1936, t. CCII, p. 164.)
1938. MACHEBŒUF (M.), DIERYCH (J.) et DIERYCH (Mme B.). — Etude comparative de la réaction phagocytaire des cobayes à l'injection intrapéritonéale de bacilles tuberculeux morts et de bacilles tuberculeux partiellement délipidés. (Chimio-vaccin). (*C. R. Acad. Sc.*, 28 mars 1938, t. CCVI, p. 1038.)
1935. MACHEBŒUF (M.), DIERYCH (J.) et STOOP (R.). — Etudes chimiques sur le bacille tuberculeux. Extraction fractionnée de diverses substances lipoidiques des bacilles tuberculeux frais et non chauffés. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. LIV, janvier 1935, pp. 70-85.)
1934. MACHEBŒUF (M.-A.) et LÉVY (G.) avec la collabor. de CHAMBAZ (M.). — Etude sur les antigènes fixateurs de bacilles tuberculeux. Antigènes fixateurs contenus dans les substances lipoidiques extraites des bacilles tuberculeux tués par la chaleur. (*Ann. Inst. Past.*, t. LIII, décembre 1934, pp. 591-97.)
1933. MANTOUX (Ch.). — La pleurite fibriculaire chronique. Son traitement par l'antigène méthylique. (*Presse Médicale*, 18 janvier 1933, n° 5.)
1921. MARBOIS (S.). — Stéapsine humaine anti-huile d'olive provoquée par vaccin tuberculeux à l'huile d'olive. (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. II, t. 85, p. 288.)
1936. MARCZYNSKI (J.). — Action de l'extrait acétonique sur la formule hémoleucocytaire du cobaye. (*Pregland Weter.*, mars 1936.)
1937. MAYER (K.). — Anticorps polysaccharidiques et anticorps lipopolysaccharidiques vis-à-vis du bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, pp. 1288-1290.)
1935. MAYER (K.) et PIC (A.). — Sur la nature des anticorps tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. III, t. 120, p. 946.)
1927. MEDLAR et KASTLIN. — The leucocyts in the blood in tuberculosis; an interpretation of the leucocytic picture based upon the pathogenesis of the disease. (*Am. Rev. of Tuberc.*, t. XVI, décembre 1927, pp. 706-728.)
1936. MESROBEANU (I.). — Les antigènes glucido-lipidiques des bactéries. (Etude chimique et biologique.) (*Arch. roumaines Path. exp. Microbiol.*, t. IX, 1936, pp. 962.)
1927. MORRISS (W.-H.) et TAN (S.-H.). — The differential leucocyt count in pulmonary tuberculosis. The value of the lymphocyt-

- monocyts ratio in the determination of activity. (*Amer. Rev. of Tubercul.*, t. XVI, décembre 1927, pp. 729-747.)
1920. MUCH (H.). — Zur Lösung des Tuberkulinrätsels. (*Deutsche mediz. Woch.*, 29 juillet 1920, p. 845.)
1932. NÈGRE (L.). — Action de l'huile d'olive et de foie de morue sur la tuberculose expérimentale du cobaye et du lapin. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XLIX, septembre 1932, pp. 319-331.)
- 1933 a). NÈGRE (L.). — Action des lipides des organes du cobaye sur l'évolution de la tuberculose expérimentale de cet animal. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. I, t. 112, p. 1301.)
- b). — Action des lipides des organes sains des mammifères sur l'évolution de la tuberculose expérimentale du cobaye et du lapin. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. LI, décembre 1933, pp. 697-706.)
- 1921 a). NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Sur le pouvoir antigène des extraits méthyliques de bacilles tuberculeux. (*Rev. Tuberc.*, 1921, p. 217.)
- b). — Sur la recherche des anticorps tuberculeux par les extraits méthyliques de bacilles tuberculeux. (*Rev. Tuberc.*, 1921, p. 366.)
- c). — Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthylique et méthylique de bacilles tuberculeux. (*Ann. Inst. Pasteur*, mai 1921.)
1922. — Sur la propriété antigène in vivo des extraits méthyliques de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, t. I, t. 87, p. 581.)
1923. — Sur les propriétés biologiques des lipoides du bacille tuberculeux (*C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. II, t. 89, p. 138.)
1925. — Essai de traitement de la tuberculose expérimentale du lapin et du cobaye par l'antigène méthylique. (*Ann. Inst. Pasteur*, février 1925, t. XXXIX, pp. 101-113.)
1929. — Action de l'antigène méthylique sur l'intoxication tuberculeuse expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 101, t. II, 1929, p. 442.)
1930. — Sur les propriétés de l'antigène méthylique. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XLV, octobre 1930, pp. 415-432.)
1935. NÈGRE (L.) et BRETEY (J.). — Etude de la bacillemie du cobaye par la méthode des injections d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. I, t. 118, p. 1182.)

1935. NÈGRE (L.), BRETEY (J.) et GÉRHARDT (O.). — Sur la valeur des résultats obtenus chez les cobayes inoculés avec un produit pathologique et traités par injection d'extraits acétoniques de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. I, t. 118, 1935, p. 649.)
1930. NÈGRE (L.) et VALTIS (J.). — Action des extraits acétoniques de bacilles tuberculeux sur les propriétés pathogènes des éléments filtrables du virus tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, t. II, t. 105, p. 183.)
1931. — Action des substances ciro-graisseuses du bacille tuberculeux sur la multiplication in vivo chez le cobaye des bacilles para-tuberculeux et des bacilles tuberculeux aviaires. (*C. R. Soc. Biol.*, t. II, 1931, t. 107, p. 596.)
1931. NÈGRE (L.), VALTIS (J.) et SAENZ (A.). — Isolement en culture des bacilles acido-résistants, issus de l'ultra-virus tuberculeux en partant de cobayes traités par injections d'extraits acétoniques de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1931, t. II, t. 107, p. 942.)
1932. NÈGRE (L.), VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — Action des substances ciro-graisseuses du bacille tuberculeux sur les jeunes cobayes nés de mères tuberculeuses. (*C. R. Soc. Biol.*, 1932, t. II, t. 110, p. 685.)
1933. — Sur les caractères des souches de bacilles tuberculeux isolés des cobayes inoculés avec des filtrats de cultures ou des produits pathologiques tuberculeux et traités par des injections d'extraits acétoniques de bacilles tuberculeux. (*Presse Médic.*, 24 septembre 1933, p. 1472.)
1932. NINNI (C.). — Reconstitution complète de la fonction antigène in vivo des lipoides du bacille tuberculeux. Toxicité des mélanges. (*C. R. Soc. Biol.*, 1932, t. II, t. 110, p. 35.)
1934. PAISSEAU (G.), VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — Sur l'allergie comparée à la tuberculine et aux filtrats d'ultra-virus tuberculeux. (*Presse Médicale*, 3 février 1934, p. 185.)
1926. PRUNELL (A.). — Formule leucocytaire et anticorps tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. II, t. 95, p. 1462.)
1938. RIST (N.). — Les lésions métastatiques produites par les bacilles tuberculeux morts, enrobés dans les paraffines. (*Ann. Inst.*, août 1938, t. 61, pp. 121-171.)
- — L'allergie conférée par les bacilles tuberculeux morts, enrobés dans les paraffines. Etude expérimentale. (*Thèse Fac. Méd. Paris*, 1938.)

1938. RIX (E.) et SCHEDTLER (O.). — Influence de la cholestérine et des graisses neutres sur l'évolution de la tuberculose expérimentale. (*Beitr. Z. Klin. d. Tuberk.*, t. XCI, 1938, pp. 493-507.)
1935. ROBB SPALDING SPRAY (Ph.-D.). — Emploi expérimental et clinique de l'antigène méthylque de BOQUET et NÈGRE. (*Rev. de la Tuberc.*, mars 1935, n° 3.)
- 1936 a). SAENZ (A.). — Réactions tuberculiniques hémorragiques particulièrement intenses, obtenues chez le cobaye par inoculation de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans de l'huile de vaseline. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 121, n° 10, 7 mars 1936, p. 957.)
- b). — Etat allergique intense révélé par l'étude de la sensibilité tuberculinique et du phénomène de Koch chez les cobayes inoculés avec les variétés R et S de bacilles aviaires morts, enrobés dans l'huile de vaseline. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 121, n° 15, 25 avril 1936.)
- 1937 a). — Degré d'allergie conférée au cobaye par l'inoculation de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans un excipient gras d'origine végétale ou minérale. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 124, 20 janvier 1937, p. 338.)
- b). — Caractères des réactions allergiques déterminées par des bacilles tuberculeux morts isolés de cobayes neufs et enrobés dans l'huile de vaseline. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 124, 23 mars 1937, p. 887.)
- c). — Retard de la dispersion des germes de surinfection chez des cobayes préparés avec des bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de vaseline. (*C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 1161.)
- d). — Vaccination du cobaye contre la tuberculose avec des bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de paraffine. (*C R Soc Biol*, t 125, 12 juin 1937, p 495.)
- e). — Sur le mécanisme de l'augmentation de l'allergie produite par enrobage des bacilles morts dans l'huile de vaseline (*C R Soc Biol*, 1937, t 125, p 714)
- 1938 — Caractères de l'allergie et de l'immunité conférées au cobaye par inoculation de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de vaseline (*Ann Inst Pasteur*, t LX, janvier 1938, p 58)
- 1939 a) SAENZ (A) et CANETTI (G) — Lésions et troubles morbides engendrés par les bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de paraffine (*Presse Médicale*, t 47, mai 1939, p 849)

- b) — Caractères et déterminisme des lésions pulmonaires produites chez le cobaye par injection intratesticulaire de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de paraffine. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 131, 3 juin 1939, p. 436.)
- 1930. SANCTIS MONALDI (T. DE). — Actions de l'antigène méthylique sur la formule leucocytaire du lapin tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. I., t. 104, p. 896.)
- 1934. SERGENT (G.). — Recherches sur les formes filtrantes du virus tuberculeux. (*Thèse Vétér.*, Paris, 1934.)
- 1937. SMITHBURN (K.-C.), SABIN (E.-R.) et HUMMEL (I.-E.). — Haematological studies in experimental tuberculosis. Variations in the blood cells of rabbits inoculated with cultures differing in virulence. (*Amer. Rev. Tuberc.*, t. XXXVI, novembre 1937, p. 673.)
- 1939. SOLOMIDES (J.). — Recherches sur l'action toxique de l'extrait acétonique de bacilles tuberculeux sur le lapin neuf, non tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, juin 1938, t. 131, p. 706.)
- 1938. STODOŁA (F.-H.), LESUK (A.) et ANDERSON (R. J.). — The chemistry of the lipids of tubercle bacille. The isolation and properties of mycolic acid. (*J. Chim. Biol.*, t. 126, décembre 1938, p. 505.)
- 1938. SUZUKI (T.), KOKUBO (Y.), SHINDO (M.) et KIMURA (S.). — Study on the blood pictures of tuberculosis from the diagnostical point of view. (*Tokoku Journ. Exp. Med.*, t. XXXII, 1938, pp. 484-509.)
- 1927. TODOROFF (A.). — Action des huiles de vaseline sur le bacille tuberculeux. (*Bull. Soc. Vét. Prat.*, juin 1927.)
- 1933. TOKUNOYAMA (Y.). — Etude immunologique des graisses : I. — Formation des corps immunisants à l'égard des graisses dans les lapins normaux et tuberculeux. II. — Influence des corps gras administrés par voie entérale et parentérale sur les lipases du sérum chez le lapin normal et tuberculeux. (*The Tokoku Journal of Experimental Medicine*, novembre 1933, t. XXII, nos 3 et 4, pp. 252 et 263.)
- 1934. TOMA (A.) et GARAGULI (A.). — Essai d'immunisation du cobaye par des extraits acétoniques de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. CXVII, p. 17.)
- 1926. TULLOCH (W.-J.). — A preliminary report of experimental immunisation against tuberculosis in the guinea-pigs by the use of oleo-vaccine. (*Tubercle*, t. VII, février 1926, p. 218.)

1921. VAGLIANO (M.-S.). — Des réactions leucocytaires consécutives à l'inoculation des bacilles tuberculeux, (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, décembre 1921, p. 1130.)
1906. VALLÉE (H.). — Bacilles tuberculeux dégraissés. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LX, juin 1906, p. 1020.)
1924. — Bacilles tuberculeux et excipient irrésorbable. (*C. R. Acad.*, t. CLXXVIII, janvier 1924, p. 152.)
1933. VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — Influence du traitement prolongé du cobaye par l'extrait acétonique de bacille tuberculeux sur l'évolution des bacilles issus de l'ultra-virus tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. II, t. 113, p. 847.)
- 1935 a). — Quelques précisions sur les éléments filtrables du bacille tuberculeux (*Presse Médicale*, février 1935, n° 17, p. 323.)
- b). — Etude comparative du traitement à l'extrait acétonique de bacilles tuberculeux sur le cobaye inoculé avec des produits suspects et le cobaye sain. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. I, t. 118, p. 652.)
- c). — Etude de trois souches de bacilles acido-résistants isolées de cobayes neufs après traitement par l'extrait acétonique de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. II, t. 119, p. 933.)
- d). — A propos de la bacillémie chez le cobaye tuberculeux et sa mise en évidence par injections d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux. (*C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 120, p. 743.)
1937. VAN DEINSE (F.) et LOUKIDIS (E.). — Recherches sur les effets d'injections intraveineuses répétées d'extrait acétonique de bacille tuberculeux chez le lapin neuf. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 124, février 1937, p. 424.)
1941. VERGE (J.) et SENTHILLE (F.). — Résultats de l'inoculation chez le chien de bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de vaseline. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 135, juin 1941, p. 817.)
1937. VINK (L.-P. DE) et TEN THIJE (J.-H.). — Modifications histologiques causées chez le cobaye sain et le cobaye tuberculeux par des injections d'extrait acétonique de bacilles tuberculeux. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. LVIII, avril 1937, p. 474.)
1935. WAHL (R.) et LAVAL (P.). — Résultats comparés de la réaction de fixation pour la tuberculose avec deux antigènes différents (antigène à l'œuf de BESREDKA et antigène méthylique de BOQUET et NÈGRE). — (*C. R. Soc. Biol.*, t. 119, 1935, t. III, p. 483.)

1938. WIEGHARD (C.-W.) et ANDERSON (R.-J.). — The chemistry of the lipids of tubercle bacilli. Studies on the wax fractions of the human tubercle bacillus. (*J. Biol. Chem.*, t. 126, décembre 1938, p. 515.)
-

En ma qualité de Censeur de
tour, j'ai lu la Thèse ayant pour
titre:

*Contribution à l'étude de la
tuberculose expérimentale chez
le lapin. (Étude des vaccins
huileux).*

par Élise AUTHIER

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.
Montpellier, le 10 avril 1943.

Le Professeur,
HOLLANDE.

Vu :

Montpellier, le 10 avril 1943.

le Doyen :
ASTRUC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Montpellier, le 12 avril 1943.

Le Recteur :

Pour le Recteur

Le Vice-Président du Conseil de l'Université

Augustin FLICHE.

